

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI

SYNTHÈSE DE DÉRIVÉS GLYCOSIDIQUES DE TYPE  
URSANE ET ÉVALUATION DE LEUR CYTOTOXICITÉ

PAR  
GILLES JOST  
B. Sc. (CHIMIE)

MÉMOIRE PRÉSENTÉ  
À L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À CHICOUTIMI  
COMME EXIGENCE PARTIELLE  
DE LA MAÎTRISE EN RESSOURCES RENOUVELABLES

AVRIL 2017



*À ma sœur Laura et mes parents,*

## Résumé

Dans des études précédentes, plusieurs triterpènes ont montré des activités cytotoxiques et antitumorales intéressantes. Cependant, la faible hydrosolubilité de ces composés nuit considérablement à leur développement biopharmaceutique. Les travaux réalisés dans le cadre de ce mémoire visaient donc à synthétiser de nouveaux glycosides triterpéniques de type ursane plus soluble pour améliorer notamment leur cytotoxicité et possiblement leur sélectivité envers les cellules cancéreuses. Deux triterpènes, l'acide ursolique et l'uvaol ont été sélectionnés comme composés de départ auxquels ont été greffés différents sucres en position 3 et 28 incluant le D-, L-arabinose ; D-galactose, D- et L-fucose ; D- et L-lyxose, L-rhamnose ainsi que le D- et L-xylose. La fonction anomérique des différents sucres benzoylés a été déprotégée et activée par un groupement trichloroacétimide (4 étapes). Les rendements obtenus varient entre 21 et 55%. La glycosylation des triterpènes ainsi que leur déprotection ont ensuite été réalisées. Deux monodesmosides ainsi que neuf bidesmosides ont été synthétisés avec succès avec un rendement se situant entre 38 et 72% (3 étapes). La cytotoxicité de l'acide ursolique, de l'uvaol et des dérivés glycosylés a été évaluée sur des lignées de cellules cancéreuses du poumon (A549) et du côlon (DLD-1) ainsi que sur une lignée de fibroblastes de peau humaine normale (WS1). Les résultats montrent que l'acide ursolique est cytotoxique contre les deux lignées de cellules cancéreuses ainsi que les cellules saines avec des  $IC_{50}$  entre 13.1 et 16  $\mu$ M alors que l'uvaol est inactif avec une  $IC_{50} > 200$   $\mu$ M. Pour les deux monodesmosides d'acide ursolique, le greffage d'un L-rhamnose en position 3 n'a pas d'impact significatif sur la cytotoxicité avec des  $IC_{50}$  variant entre 8.5 et 14  $\mu$ M alors que le greffage d'un D-galactose inactive la molécule. D'autre part, les résultats montrent que la glycosylation des positions 3 et 28 de l'uvaol avec les différents sucres sont tous actifs ( $IC_{50} = 4.5$  à 62  $\mu$ M) à l'exception du dérivé greffé avec le L-xylose ( $IC_{50} > 200$   $\mu$ M). L'ajout d'un L-rhamnose en position 3 et 28 a permis d'obtenir le dérivé le plus actif et sélectif de la série avec une  $IC_{50}$  de 4.5  $\mu$ M envers les cellules cancéreuses du poumon, A549. Finalement, dans tous les cas, les bidesmosides d'uvaol constitués de sucres de la série D- sont plus cytotoxiques que ceux de la série L-.



## Remerciements

À l'issue de la rédaction de ce mémoire, je suis convaincu que la maîtrise est loin d'être un travail solitaire. En effet, jamais je n'aurais pu réaliser ce travail sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser efficacement.

En premier lieu, je tiens à remercier mon directeur de maîtrise, le Professeur André Pichette, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail de recherche, pour ses précieux conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrées à diriger cette recherche. J'aimerais également lui dire à quel point j'ai apprécié sa grande disponibilité et son respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je lui ai adressés. Mes remerciements s'adressent ensuite à mon codirecteur de maîtrise, le Professeur Jean Legault, pour ses conseils et ses idées en ce qui concerne la partie biologie du projet. Il m'a été d'une aide cruciale dans la compréhension et la rédaction des résultats d'activités biologiques.

Je tiens à remercier spécialement le Docteur Balla Sylla pour la grande influence qu'il a eu sur moi lors de ma maîtrise et qui a été une source d'inspiration, tant au niveau de la chimie qu'au niveau social.

Je souhaiterais exprimer ma gratitude à tous les autres membres du Laboratoire LASEVE : les Docteurs François Simard, Benoit Roger, Serge Lavoie, les étudiants Alexis Saint-Gelais, Simon Gandrieau, Charlotte Pichard, François Latour, Marion Etienne, Christopher Herailh et Julie Pierra, qui sont pour moi de très bons amis et collègues de laboratoire. J'aimerais remercier chaleureusement le Docteur Vakthang Mshvildadze, professeur invité, avec qui j'ai passé de bons moments. Un gros merci au département des sciences fondamentales de m'avoir soutenu dans mes démarches pour le dépôt du mémoire.

Par la suite, j'aimerais remercier mes parents ainsi que ma sœur Laura, qui m'ont toujours supporté tout au long de mes études et ont toujours cru en moi. Je remercie d'une façon particulière ma copine, Sophie, pour sa patience et sa générosité.

Finalement, ce projet a été réalisé avec le support des Instituts de Recherche en Santé du Canada (IRSC) pour la Chaire de Recherche du Canada sur les agents anticancéreux d'origine naturelle décernée au Professeur André Pichette.

## Tables des matières

Résumé	i
Remerciements	ii
Tables des matières	iv
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des annexes	viii
Listes des abréviations	ix
Chapitre 1 - INTRODUCTION	1
Chapitre 2 - REVUE DE LITTÉRATURE	7
2.1 Les triterpènes	8
2.2 Activités biologiques des triterpènes de type ursane	10
2.2.1 Activités biologiques de l'acide ursolique	10
2.2.2 Activités biologiques de l'uvaol	12
2.3 Saponines triterpéniques	13
2.3.1 Activités biologiques des saponines d'acide ursolique	15
2.3.2 Activités biologiques de quelques dérivés d'uvaol	19
2.4 Approches de synthèse de saponines triterpéniques	19
2.4.1 Activation des sucres avec le groupement trichloroacétimide	20
Chapitre 3 - PARTIE EXPÉRIMENTALE	21
3.1 General methods	22
3.2 General procedure for the preparation of sugars	24
3.3 General procedure for the preparation of aglycons	31
3.4 General procedure for the glycosylation	33
3.5 General procedure for the deprotection	44

Chapitre 4 - RÉSULTATS ET DISCUSSION	59
4.1 Synthèse des dérivés glycosylés de l'acide ursolique et de l'uvaol	60
4.1.1 Préparation des sucres activés par greffage d'un groupement trichloroacétimide	61
4.1.2 Glycosylation de l'acide ursolique et de l'uvaol	64
4.2 Évaluation de l'activité cytotoxique des dérivés d'acide ursolique et d'uvaol	68
4.2.1 Tests de cytotoxicité	68
4.2.2 Étude de la cytotoxicité des composés	68
Chapitre 5 - CONCLUSION	72
Références	75
ANNEXE 1	84
ANNEXE 2	88

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Structure de trois agents anticancéreux d'origine naturelle ( <b>1 – 3</b> ) utilisés en clinique	3
<b>Figure 2.</b> Structure de quelques molécules naturelles anticancéreuses ( <b>4 – 6</b> ) issues de la forêt boréale	4
<b>Figure 3.</b> Triterpènes de type ursane à l'étude dans le cadre du projet	5
<b>Figure 4.</b> Voie biosynthétique de quelques familles de triterpènes	9
<b>Figure 5.</b> Représentation de l'acide ursolique en conformation chaise	10
<b>Figure 6.</b> Représentation de l'uvaol en conformation chaise	12
<b>Figure 7.</b> Exemple de saponine à génine stéroïdique : pentandroside D	13
<b>Figure 8.</b> Exemple de saponine à génine triterpénique : $\alpha$ -hédérine	14
<b>Figure 9.</b> Structure du 28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside d'acide ursolique	16
<b>Figure 10.</b> L'acide ursolique et quelques dérivés hémisynthétiques présentant une certaine cytotoxicité	18
<b>Figure 11.</b> Préparation de l'acide ursolique	60
<b>Figure 12.</b> Synthèse de l'uvaol ( <b>8</b> )	61
<b>Figure 13.</b> Formation du L-rhamnose trichloroacétimide ( <b>26</b> )	62
<b>Figure 14.</b> Synthèse du 3,28-di- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol ( <b>47</b> )	65
<b>Figure 15.</b> Synthèse du 3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl acide ursolique ( <b>57</b> )	66

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.</b> Estimation des décès du cancer selon le sexe au Canada en 2015	2
<b>Tableau 2.</b> Saponines triterpéniques d'acide ursolique d'origine naturelle	15
<b>Tableau 3.</b> Dérivés glycosidiques d'acide ursolique	17
<b>Tableau 4.</b> Rendements globaux observés pour la préparation des sucres trichloroacétimides	63
<b>Tableau 5.</b> Rendements observés pour la préparation des saponines cibles (glycosylation et déprotection)	67
<b>Tableau 6.</b> Activité cytotoxique des dérivés glycosylés d'acide ursolique et d'uvaol à l'aide du test à résazurine	71

## Liste des annexes

<b>Annexe 1.</b> Mécanismes réactionnels	84
<b>Annexe 2.</b> Spectres RMN	88

## Listes des abréviations

[ $\alpha$ ] :	rotation spécifique
Aq :	aqueux
Ara :	arabinose
Bn :	benzyle
BnBr :	bromure de benzyle
Bu <sub>4</sub> NI :	iodure de tétrabutylammonium
Bz :	benzoyle
BzCl :	chlorure de benzoyle
calcd :	<i>calculated</i>
CAM :	molybdate d'ammonium cérique
CCM :	chromatographie sur couche mince
CDCl <sub>3</sub> :	chloroforme deutéré
CD <sub>3</sub> OD :	méthanol deutéré
Cel :	cellobiose
COSY :	<i>correlation spectroscopy</i>
$\delta$ :	déplacement chimique
d :	doublet
dd :	doublet de doublet
DEPT :	<i>distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DMAP :	diméthylaminopyridine
DMF :	diméthylformamide
EC <sub>50</sub> :	concentration efficace médiane
EtOAc :	acétate d'éthyle
FADH :	le nicotinamide adénine dinucléotide
fuc :	fucose
g :	gramme(s)
gal :	galactose
glu :	glucose
h :	heure(s)
HMBC :	<i>heteronuclear multiple bond correlation</i>
HRMS :	<i>high Resolution Mass Spectrometry</i>
HSQC :	<i>heteronuclear single quantum correlation</i>
Hz :	Hertz
IC <sub>50</sub> :	concentration inhibant 50 % de l'activité biologique
<i>J</i> :	constante de couplage
lyx :	lyxose
m :	multiplet
MeOH :	méthanol
mg :	milligramme(s)
ml :	millilitre(s)



mmol :	millimole(s)
mol :	mole(s)
$m/z$ :	ratio masse sur charge
NAD :	le nicotinamide adénine dinucléotide
NaOMe :	méthanolate de sodium
NMR :	<i>nuclear magnetic resonance</i>
<i>Pyridine-d</i> :	pyridine deutérée
PdC :	palladium sur charbon activé
ppm :	parties par million
$R_f$ :	facteur de rétention
rha :	rhamnose
RMN :	résonance magnétique nucléaire
rt :	température ambiante
TCA :	trichloroacétimide
THF :	tétrahydrofurane
TLC :	<i>thin layer chromatography</i>
TMS :	triméthylsilyle, tétraméthylsilane
TMSOTf :	trifluorométhanesulfonate de triméthylsilyle
VIH :	virus d'immunodéficience humaine
xyl :	xylose

## **Chapitre 1**

### **INTRODUCTION**

Le cancer est la cause de mortalité la plus importante dans les pays développés et en voie de développement (World Health Statistics, 2011). En 2015, c'est deux Canadiens sur cinq d'hommes et des femmes qui développeront un cancer dans leur vie et de ce nombre, une personne sur quatre en meurt (Comité consultatif de la Société canadienne du cancer, 2015). Comme le montrent les données (ou estimations) canadiennes du Tableau 1, le cancer du poumon demeure la principale cause de décès par cancer. Il est responsable de près de 27 % des décès liés au cancer ce qui fait le type de cancer le plus meurtrier (Canadian Cancer Society, 2015).

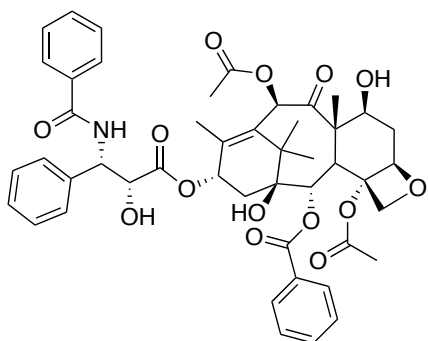
**Tableau 1.** Estimation des décès du cancer selon le sexe au Canada en 2015

	Décès estimés en 2015		
	Total	Hommes	Femmes
<b>Tous les cancers</b>	<b>78 000</b>	<b>41 000</b>	<b>37 000</b>
Poumon	20 896	10 906	9 990
Sein	5 032	-	5 032
Côlon	9 339	5 084	4 255
Prostate	4 144	4 144	-

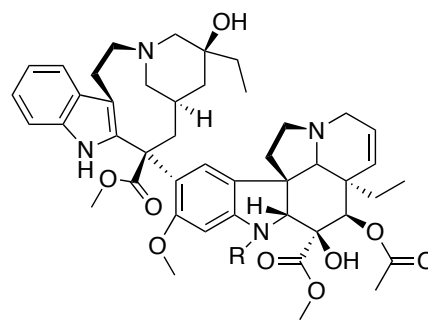
Source : (Canadian Cancer Society, 2015)

Plusieurs médicaments anticancéreux d'origine naturelle sont actuellement sur le marché. Le Taxol<sup>®</sup> (paclitaxel **1**), un anticancéreux extrait de l'écorce d'if du pacifique (*Taxus brevifolia*) et de l'écorce d'if du Canada (*Taxus canadensis*), le Velban<sup>®</sup> (vinblastine **2**) et l'Oncovin<sup>®</sup> (vincristine **3**), des agents anticancéreux extraits de la pervenche de Madagascar

(*Catharanthus roseus*) sont représentés à la Figure 1. Ils sont de bons exemples d'agents anticancéreux issus de plantes qui sont encore aujourd'hui utilisés en clinique.



Paclitaxel (1)

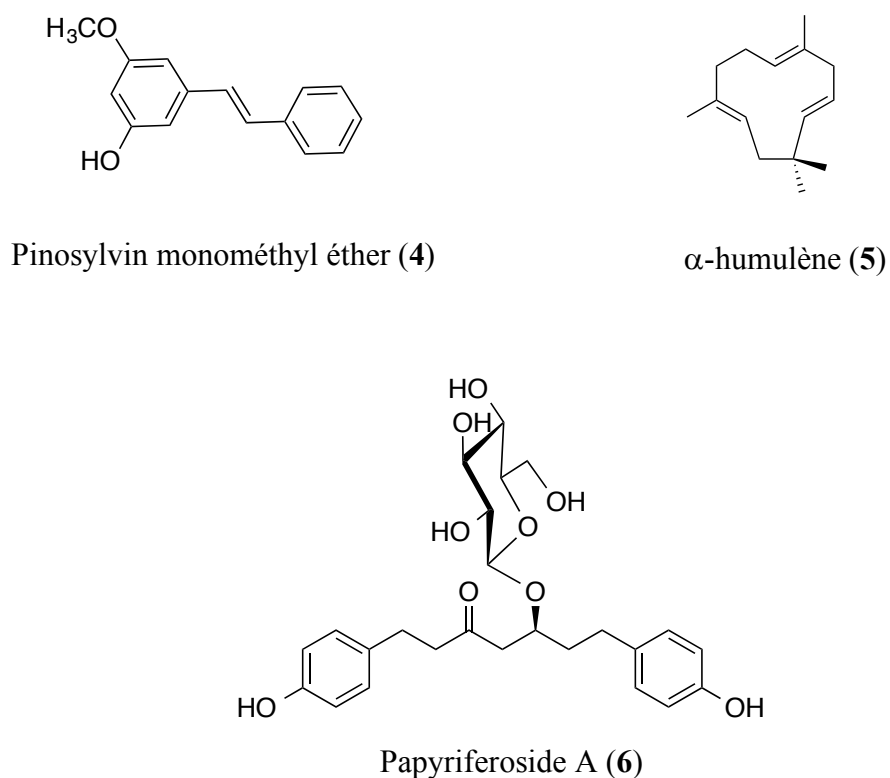


Vinblastine (2) : R = CH<sub>3</sub>  
Vincristine (3) : R = CHO

**Figure 1.** Structure de trois agents anticancéreux d'origine naturelle (1 – 3) utilisés en clinique

Dans le domaine des produits d'origines naturels, peu d'études ont rapporté jusqu'à maintenant le potentiel cytotoxique des plantes de la forêt boréale canadienne. Pourtant, cet environnement recèle de nombreuses espèces végétales encore inconnues en termes de composition chimique et de propriétés médicinales (Uprety *et al.*, 2012). Le paclitaxel (1) (figure 1) est un exemple qui démontre le potentiel biopharmaceutique de la forêt boréale. La formulation de ce composé, qui est utilisée en clinique pour le traitement des cancers du poumon, du sein et des ovaires (Piccart *et al.*, 2003 ; Ozols *et al.*, 2003), rapporte des ventes annuelles de plus de 2 milliard \$US (Sirois, 2005). Le *Taxus canadensis* est utilisé commercialement pour la production de paclitaxel et de d'autres taxanes.

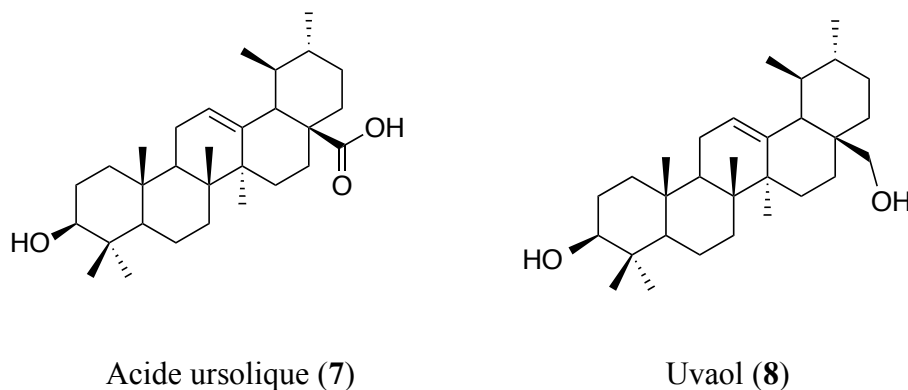
Les recherches effectuées au LASEVE sont basées en partie sur la médecine traditionnelle amérindienne. Elles ont permis la découverte de nouvelles molécules cytotoxiques, lesquelles ont été isolées à partir de divers végétaux issus de la forêt boréale. Le pinosylvin monométhyl éther (**4**), extrait du pin rouge (*Pinus resinosa*), en est un excellent exemple (Simard *et al.*, 2008). D'autres exemples de molécules intéressantes dans le domaine du cancer peuvent être cités : l' $\alpha$ -humulène (**5**) (figure 2), identifié dans l'huile essentielle de sapin baumier (*Abies balsamea*) (Legault *et al.*, 2003) et le papyriferoside A (**6**) (figure 2), un diarylheptanoïde glycosylé isolé des écorces de bouleau blanc (*Betula papyrifera*) (Mshvildadze *et al.*, 2007).



**Figure 2.** Structure de quelques molécules naturelles anticancéreuses (**4 – 6**) issues de la forêt boréale

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, le potentiel cytotoxique de triterpènes de type ursane, l'acide ursolique (**7**) (figure 3) et l'uvaol (**8**) (figure 3), contenus dans plusieurs espèces

végétales, a suscité un intérêt particulier. Il est possible de les retrouver dans les feuilles du thé du Labrador (*Rhododendron groenlandicum*) (Dufour *et al.*, 2007), dans la pelure des pommes (*Malus domestica*) (Frighetto *et al.*, 2008) et dans l'huile d'olive (Amelio *et al.*, 1992). L'acide ursolique a démontré des activités biologiques très diversifiées, telles que des propriétés antivirale (Quere *et al.*, 1996), anti-inflammatoire (Kosuge *et al.*, 1985) et antitumorale (Huang *et al.*, 1994). Une étude antérieure a démontré que l'acide ursolique (7) était un composé intéressant en raison de sa bonne cytotoxicité pour une ou des lignées de cancer du côlon (Andersson *et al.*, 2003). L'acide ursolique inhibe également la prolifération et induit l'apoptose des cellules cancéreuses du côlon (Shan *et al.*, 2009). Sur modèle animal, l'acide ursolique démontre un meilleur taux de survie (Kim *et al.*, 1998). L'acide ursolique a aussi montré induire la différenciation de tératocarcinome F9 en cellules endodermiques (Lee *et al.*, 1994).



**Figure 3.** Triterpènes de type ursane à l'étude dans le cadre du projet

L'acide ursolique (7) et l'uvaol (8), présentent une lacune majeure en phase pour le développement préclinique. En effet, ces deux molécules ont une faible hydrosolubilité. Ceci complique l'administration et d'absorption dans l'organisme car la mise au point de formulations injectables (Liu, 2005) est très difficile. Pour contourner ce problème, des travaux de recherche ont été menés sur la synthèse de dérivés hydrosolubles de l'acide ursolique tels que des dérivés de cyclodextrine utilisés en nanosuspensions (Chen *et al.*, 2005) et des dérivés oxygénés (Suh *et al.*, 1998). L'étude conclut que le triterpène est 6 fois plus

soluble et que sa vitesse de dissolution est 4 fois plus rapide lorsqu'il est sous forme de nanoparticule.

Le laboratoire LASEVE a développé une solide expertise sur l'isolation et la caractérisation de triterpènes ayant des structures de type lupane et possédant des propriétés cytotoxiques intéressantes. Le laboratoire s'est ensuite appliqué à modifier la structure chimique de ces composés d'intérêt afin d'en bonifier le comportement pharmacologique. Il a été constaté que certaines des glycosylations amélioraient les propriétés pharmacologiques de triterpènes de type lupane (Gauthier *et al.*, 2006). Cette étude préalable a permis de démontrer que les modulations chimiques par glycosylation permettaient d'améliorer les  $IC_{50}$  des structures de type lupane. Puisque les ursanes sont apparentées aux lupanes, le laboratoire LASEVE voulait vérifier le bien-fondé de ces modifications structurales sur cette famille de composés.

Ce projet de recherche vise donc à améliorer la cytotoxicité et la sélectivité de l'acide ursolique (7) et de l'uvaol (8) en greffant régio- et stéréosélectivement une ou des sections sucre(s) (glycosylation). Dans un second temps, l'impact de certaines modifications structurales (configuration et nature du sucre) sur l'activité cytotoxique de ces nouveaux dérivés qui seront évalué sur des lignées de cellules cancéreuses et saines.

Ce mémoire de maîtrise est subdivisé en cinq chapitres.

- Le chapitre I résume sommairement le projet de recherche.
- Le chapitre II présente la partie de la revue de littérature scientifique sur les triterpènes, les saponines triterpéniques de type ursane et leurs activités biologiques.
- Le chapitre III contient les procédures expérimentales détaillées et les caractérisations des composés synthétisés.
- Le chapitre IV présente les résultats de ce projet et discute de leur signification sur les plans chimique et biologique.
- Le chapitre V dresse les principales conclusions et propose plusieurs perspectives pour la suite de ce projet.

## **Chapitre 2**

### **REVUE DE LITTÉRATURE**

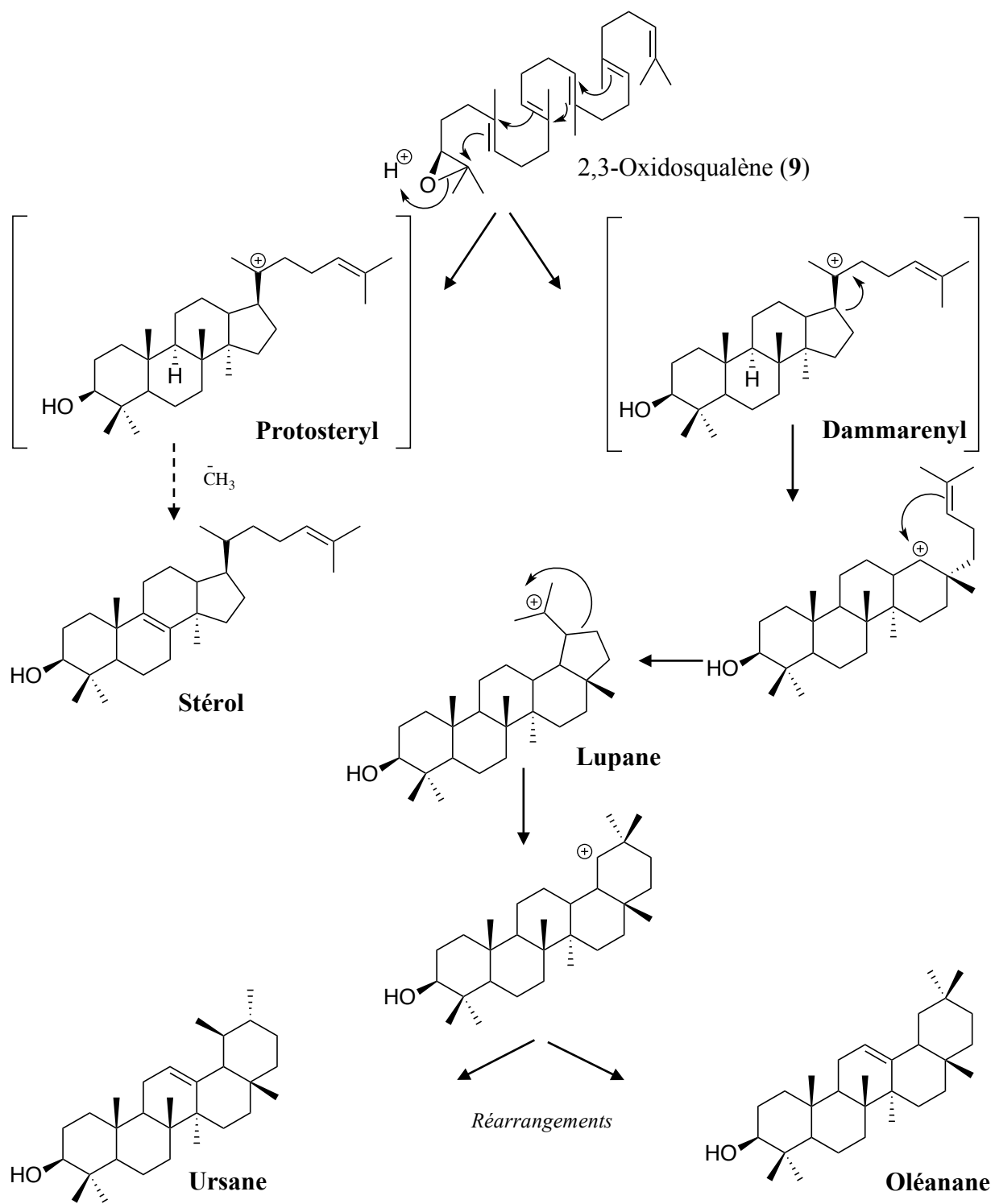


## 2.1 Les triterpènes

Les triterpènes sont une famille de molécules appartenant aux métabolites secondaires composés d'un squelette de 30 carbones. Un métabolite secondaire est une molécule indispensable à la nutrition et assure la croissance et le développement de la plante.

Il existe environ 200 différents triterpènes connus qui proviennent majoritairement de la cyclisation du 2,3-oxidosqualène (**9**) et dans certains cas du squalène lui-même. Ces molécules portent pratiquement toujours une fonction hydroxyle sur la position 3, sachant qu'il y a ouverture de l'époxyde lors de la cyclisation. La figure 4 présente la biosynthèse de plusieurs types de triterpènes (Phillips *et al.*, 2006). La biosynthèse de ces derniers résulte de plusieurs réactions enzymatiques courantes telles que les hydroxylations, les oléfinations et les méthylations (Bruneton, 1999) ainsi que de la participation de plusieurs cofacteurs (NAD, FADH, etc.).

Les triterpènes possèdent une grande palette d'activités biologiques, ce qui en fait un groupe de molécules très important. Ils sont souvent isolés sous forme de saponines triterpéniques, c'est-à-dire un triterpène porteur d'une ou plusieurs sections sucres. Ces composés possèdent plusieurs activités biologiques telles qu'antivirale, antimicrobienne et antitumorale (Bruneton, 1999).



**Figure 4.** Voie biosynthétique de quelques familles de triterpènes

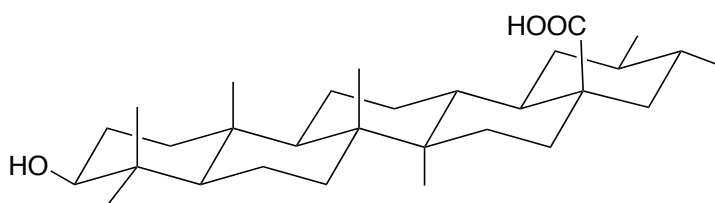
## 2.2 Activités biologiques des triterpènes de type ursane

### 2.2.1 Activités biologiques de l'acide ursolique

L'acide ursolique (7), représenté à la figure 5, est un triterpène pentacyclique isolé pour la première fois par le pharmacien Johann Trommsdorff à partir des feuilles d'*Arctostaphylos uva ursi* (Gintl, W., H., 1893). Il est largement distribué dans le règne végétal et est présent dans plusieurs familles de plantes telles que les Sapotacées (Gupta *et al.*, 1969), Rosacées (Trumbull *et al.*, 1976) et les Euphorbiacées (Fang *et al.*, 1985).

Les travaux effectués à ce jour sur l'acide ursolique ont mis en évidence les effets biologiques suivants :

- Antibactérien (Nascimento *et al.*, 2014)
- Antifongique et antiviral (Liu, 1995)
- Hépatoprotecteur (Liu, 1995)
- Anti-inflammatoire (Hirota *et al.*, 1990)
- Antitumoral (Lee *et al.*, 1994)
- Antiprolifératif et pro-apoptotique (Andersson *et al.*, 2003)



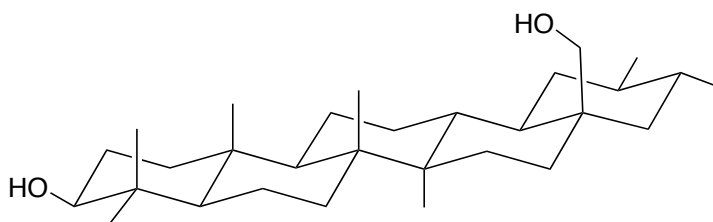
**Figure 5.** Représentation de l'acide ursolique en conformation chaise

L'acide ursolique est reconnu principalement pour son activité anti-inflammatoire. Le groupe de recherche de Mori (Hirota *et al.*, 1990) a réussi à supprimer l'inflammation induite par un ester de phorbol par l'application préalable d'acide ursolique sur la peau des souris. L'ester de phorbol, le 12-*O*-hexadecanoyl-16-hydroxyphorbol-13-acetate (HHPA), est utilisé pour

induire des œdèmes. Une application de 200 µg d'acide ursolique permettrait une réduction de plus de 50% de l'inflammation (Hirota *et al.*, 1990). Les résultats de l'étude d'Ohigashi (Ohigashi, 1986) suggèrent que l'hydroxyle en position C-3 est essentielle à l'activité inflammatoire. En effet, une réduction de l'activité a été démontrée lorsque cette position est fonctionnalisée par un méthyle ou un acétate (Ohigashi, 1986). Il a également été démontré par le groupe de Nishino Hoyoku que l'acide ursolique inhibe l'inflammation induite par le TPA sur modèle de souris (Banno *et al.*, 2004).

L'acide ursolique a également montré une activité antitumorale significative sur les cellules Raji (lymphomes de Burkitt). En effet, l'acide ursolique inhibe les tumeurs induites par l'ester de phorbol (HHPA) (Tokuda *et al.*, 1986). Le Centre de Recherche sur le Cancer en Corée du Sud a démontré que l'acide ursolique induit la différenciation des cellules tératoïdes de souris *in vivo* (cellules F9). Les tératoïdes sont des masses tumorales qui se développent durant la période embryonnaire. L'acide ursolique induirait donc la différenciation de ces cellules en faisant une régulation de l'expression des gènes par interaction avec des récepteurs des membranes nucléaires (Lee *et al.*, 1994). De plus, il a été avancé que l'acide ursolique empêcherait l'invasion des cellules tumorales HT1080 via l'inhibition de la métalloprotéinase-9. Les MMPs dégradent la membrane basale et modifient les protéines d'adhésion cellulaire telles que les intégrines ce qui contribue à la progression métastatique (Kessenbrok *et al.*, 2010 ; Giaeli *et al.*, 2011). Cette dégradation favoriserait le processus invasif des tumeurs (Cha *et al.*, 1996). Enfin, il a été démontré que l'acide ursolique inhibe la prolifération des cellules cancéreuses du côlon HT-29 et induit l'apoptose par activation des caspases-3, -8 et -9 (Andersson *et al.*, 2003).

### 2.2.2 Activités biologiques de l'uvaol



**Figure 6.** Représentation de l'uvaol en conformation chaise

L'uvaol, représenté à la figure 6, est un triterpène possédant une structure moléculaire apparentée à l'acide ursolique. La différence réside dans le niveau d'oxydation du carbone en position 28, l'uvaol étant constitué d'un alcool primaire et l'acide ursolique d'un acide carboxylique. C'est en 1937 que ce triterpène pentacyclique a été isolé pour la première fois, à partir du *Leucothoe keiskei* miq, une plante originaire du Japon (Jack *et al.*, 1937). C'est une molécule présente dans plusieurs familles de plantes telles que les Éricacées (Zymalkowski, 1969), les Oleacées (Sánchez *et al.*, 2004) et les Aizoacées (Martins *et al.*, 2011).

Très peu d'études ont été effectuées sur l'uvaol. Les rares publications qui en font mention rapportent toutefois, plusieurs activités biologiques :

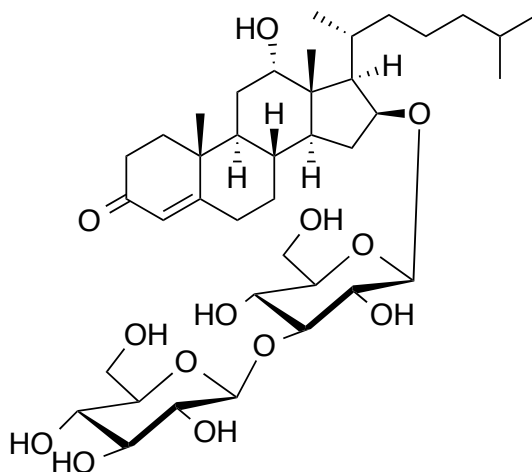
- Antibactérien (Martins *et al.*, 2011)
- Antiviral (Byung *et al.*, 1999)
- Cardiotonique et antiarythmique (Somova *et al.*, 2004)
- Antiprolifératif (Saady *et al.*, 1995)

Quelques groupes de recherche se sont intéressés au potentiel pharmacologique de l'uvaol. En effet, ce triterpène a révélé une activité antivirale avec une  $IC_{50}$  de 5.5  $\mu$ M pour l'inhibition de la protéase du VIH (Byung *et al.*, 1999). De plus, il a été démontré que l'uvaol et la ciprofloxacine combinés seraient plus efficaces contre les souches résistantes de *Salmonella* (*Salmonella*) que l'antibiotique seul (Martins *et al.*, 2011). Un laboratoire de recherche en Afrique du Sud a démontré une faible toxicité de l'uvaol avec une  $LC_{50}$  de 1.1 mg/ml sur des crevettes (Somova *et al.*, 2004). De plus, ils ont permis la confirmation de son potentiel anti-

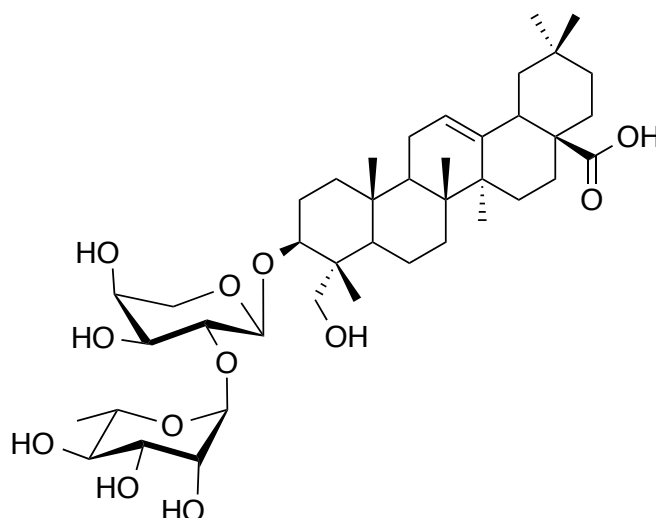
arythmique qui permet de réguler les battements du cœur avec un effet comparable au Propanolol (Somova *et al.*, 2004). Ce dernier donnerait une pression artérielle de 450 mm Hg et 150 battements de cœurs/minute (bpm) tandis que l'uvaol donnerait plutôt une pression artérielle autour de 416 mm Hg et 148 bpm. Finalement, il a été démontré que l'uvaol inhibe la croissance des cellules tumorales gastriques humaine (HGT) et des cellules du cancer du sein humain (MCF7) d'une manière dépendante de la dose administrée (Saady *et al.*, 1995).

### 2.3 Saponines triterpéniques

Les saponines sont un groupe de molécules du métabolisme secondaire des espèces végétales. Au niveau structural, il existe deux classes de saponines en fonction de la nature de la génine. Tel que le montre les figures 7 et 8 respectivement, les saponines peuvent être de nature stéroïdique ou terpénique (Bruneton, 1999).



**Figure 7.** Exemple de saponine à génine stéroïdique : pentandroside D



**Figure 8.** Exemple de saponine à génine triterpénique :  $\alpha$ -hédérine

Les unités saccharidiques des saponines naturelles sont généralement constituées des mêmes sucres, notamment le glucose, le galactose, l'arabinose, le rhamnose et le xylose. La position C-3 est souvent glycosylée, mais il est possible de trouver des unités saccharidiques en d'autres positions telles que la position C-28 (Wamy *et al.*, 2001).

Les saponines triterpéniques présentent plusieurs activités biologiques répertoriées (Liu *et al.*, 2002). En effet, la littérature scientifique rapporte des propriétés pharmacologiques très diversifiées : anti-inflammatoire, antitumorale, antivirale, antifongique, cardiovasculaire, cytotoxique, etc. (Rao *et al.*, 2000). Plusieurs saponines sont connues pour interagir de façon brutale avec les érythrocytes sanguins. Cette activité hémolytique cause des dommages irréversibles telle que la modification de la perméabilité de la membrane, ce qui entraîne une perte de l'hémoglobine (Voutquenne, 2001).

### 2.3.1 Activités biologiques des saponines d'acide ursolique

Plusieurs saponines naturelles de type ursane ont été identifiées par la communauté scientifique. En effet, il existe un grand nombre de saponines naturelles dérivées de l'acide ursolique. Le tableau 2 en présente quelques exemples issus de deux plantes : *Morina nepalensis* (Zhang *et al.*, 2013) et *Aralia decaisneana* (Miyase *et al.*, 1996).

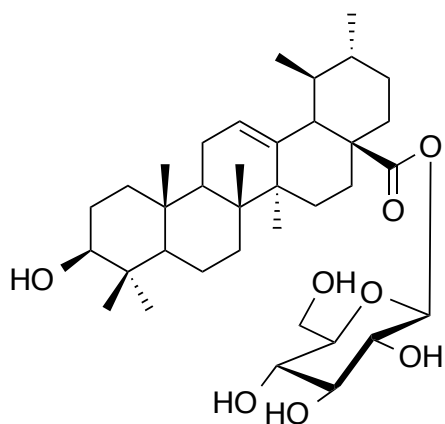
**Tableau 2.** Saponines triterpéniques d'acide ursolique d'origine naturelle

Saponines	Nom	Plantes
3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyransyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-xylopyranosyl ursolate-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	Monepaloside M	<i>Morina nepalensis</i>
3- <i>O</i> - $\alpha$ -L-arabinopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\alpha$ -L-rhamnopyransyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl ursolate-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	Monepaloside N	<i>Morina nepalensis</i>
3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\beta$ -D-xylopyransyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl ursolate-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	Araliasaponin VIII	<i>Aralia decaisneana</i>
3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\beta$ -D-xylopyransyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl acide ursolique	Araliasaponin IX	<i>Aralia decaisneana</i>
3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl ursolate-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -D-glucopyranoside	Araliasaponin X	<i>Aralia decaisneana</i>
3- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranosyl-(1 $\rightarrow$ 3)-[ $\beta$ -D-xylopyransyl-(1 $\rightarrow$ 2)]- $\beta$ -D-glucopyranosyl ursolate-28- <i>O</i> - $\beta$ -D-glucopyranoside	Araliasaponin XI	<i>Aralia decaisneana</i>

Il existe peu d'études sur les activités biologiques des saponines d'acide ursolique. La littérature est plus abondante sur les propriétés pharmacologiques d'extraits végétaux contenant l'acide ursolique (Liu, 1995). Plusieurs laboratoires ont tenté d'améliorer les propriétés pharmacologiques de ce triterpène par synthèse organique. Plusieurs articles scientifiques énoncent le développement de nouvelles saponines synthétiques d'acide ursolique à des fins thérapeutiques (Baglin *et al.*, 2003). En 2003, une étude publiée dans *Journal of Medicinal Chemistry* a prouvé que plusieurs dérivés de l'acide ursolique inhibaient la réplication du VIH de type 1 et présentaient une activité cytotoxique sur les cellules

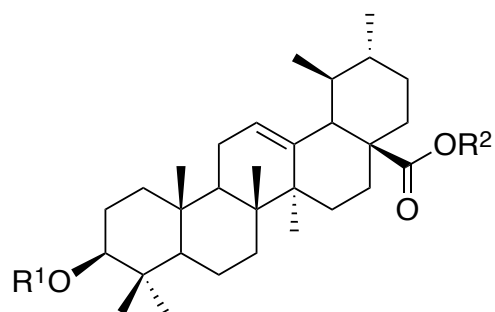


cancéreuses humaines du côlon (HT-29). Le meilleur candidat hémisynthétique qui en est ressorti est le 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside d'acide ursolique **12**, représenté à la figure 9, avec une activité anti-VIH marquée ( $EC_{50} = 4 \mu M$ ) et une activité cytotoxique élevée sur HT29 ( $IC_{50} = 8 \mu M$ ) (Baglin *et al.*, 2003).



**Figure 9.** Structure du 28-*O*- $\beta$ -D-glucopyranoside d'acide ursolique

Depuis ce temps, de nombreux dérivés ont été synthétisés dans le but d'identifier des composés avec un potentiel pharmacologique rehaussé. Un groupe de recherche chinois a donc effectué la synthèse de plusieurs composés de ce type et a déposé un brevet sur toutes les nouvelles structures (Guang *et al.*, 2010). Les composés hémisynthétiques sont présentés dans le tableau 3 ci-dessous. Le brevet rapporte une activité pharmacologique sur un modèle animal (CY- induced leukopenia mice).

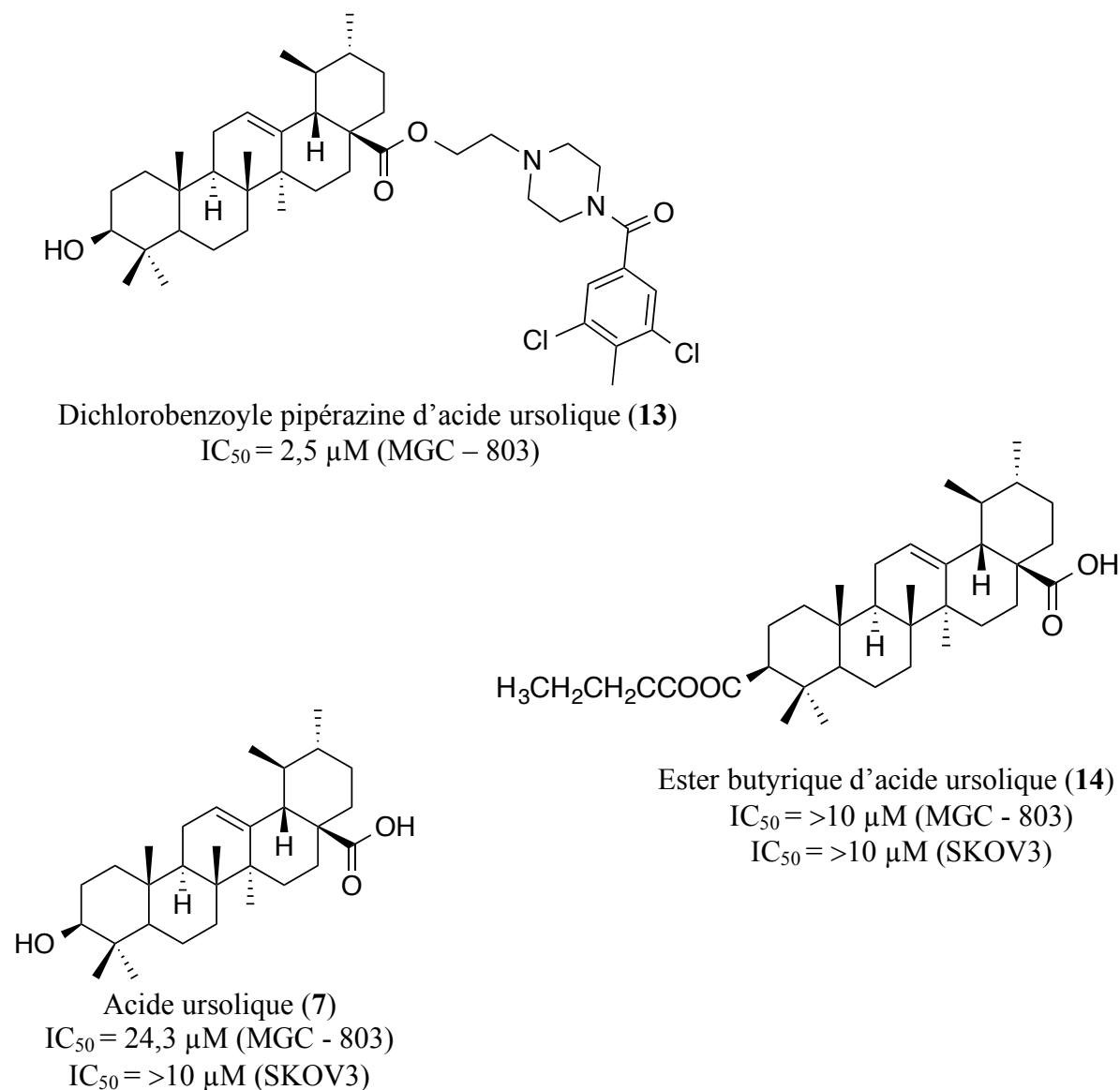


**Tableau 3.** Dérivés glycosidiques d'acide ursolique

Composé	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Composé	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
3-gal d'acide ursolique	D-gal	H	3,28-ara d'acide ursolique	L-ara	L-ara
3-rha d'acide ursolique	L-rha	H	3,28-rha d'acide ursolique	L-rha	L-rha
3-ara d'acide ursolique	L-ara	H	3,28-glu d'acide ursolique	D-glu	D-glu
3-glu d'acide ursolique	D-glu	H	3-ara, 28-cel d'acide ursolique	L-ara	D-glu
28-ara d'acide ursolique	H	L-ara	3-ara, 28-cel d'acide ursolique	L-ara	cel

D'autres dérivés de l'acide ursolique représentés à la figure 10 ont été synthétisés dans le but d'établir des relations entre la structure des analogues et l'activité anticancéreuse. Dans l'ensemble des études, lorsque la position C-28 est fonctionnalisée, l'activité anticancéreuse est améliorée. En effet, le dérivé de pipérazine (**13**) en C-28 permettaient une nette amélioration de l'activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses de l'estomac MGC – 803 (Liu *et al.*, 2012). En ce qui concerne la synthèse d'analogues fonctionnalisées en position C-

3, il n'existe que très peu de nouvelles structures ayant été testées pour leur cytotoxicité. La synthèse d'un ester d'acide butyrique (**14**) en position 3 de l'acide ursolique a donné un composé très peu cytotoxique. Tel que le montre la figure 10, la présence d'une section dichlorobenzoyle pipérazine sur la fonction acide de l'acide ursolique semble avoir un effet positif sur la cytotoxicité (Meng *et al.*, 2010).



**Figure 10.** L'acide ursolique et quelques dérivés hémisynthétiques présentant une certaine cytotoxicité

### 2.3.2 Activités biologiques de quelques dérivés d'uvaol

Suite à une étude approfondie de la littérature, aucune saponine d'uvaol n'a encore été répertoriée à l'heure actuelle. Il existe cependant une étude mentionnant des dérivés hémisynthétiques d'uvaol. Un groupe de recherche a développé des dérivés aminoproxy d'uvaol en positions 3 et 28 dans le but d'en augmenter le potentiel pharmacologique (Kazakova *et al.*, 2011). Cependant seul un dérivé d'erythrodiol montrait une bonne activité cytotoxique. Aucune autre étude sur la modulation chimique de l'uvaol n'a été rapportée dans la littérature.

## 2.4 Approches de synthèse de saponines triterpéniques

Il existe plusieurs approches de synthèse de glycosides triterpéniques dans la littérature scientifique (Gauthier *et al.* 2009). Cependant, peu d'études se sont penchées sur la synthèse de saponines de type ursane. En 1994, le laboratoire de pharmacognosie de Reims (France) avait préparé une série de glycosides triterpéniques avec deux aglycones : l'acide ursolique (7) et l'acide oléanolique. Le type de sucre utilisé pour la glycosylation était du 1-bromo-tétra-*O*-acétyl- $\beta$ -D-glycopyranosyl dans du dichlorométhane et de l'eau en présence d'une base, le  $K_2CO_3$  avec des rendements allant de 84 à 96% (Bliard *et al.*, 1994). Les glycosylations avec un donneur de glycosides bromé en position anomérique ont souvent été utilisés (Paulsen, 1982). Les rendements observés avec des dérivés triterpéniques sont souvent faibles, voire insatisfaisants.

### 2.4.1 Activation des sucres avec le groupement trichloroacétimide

Afin d'améliorer les synthèses de saponines triterpéniques, plusieurs groupes de recherche se sont tournés vers des sucres imidates. Pierre Sinaÿ fut le premier chimiste organicien à travailler sur les sucres imidates (Pougny *et al.*, 1976). Par la suite, le professeur Richard R. Schmidt, au début des années 80, a développé une nouvelle génération de sucres activés au

niveau du carbone anomérique à partir des imidates (Schmidt *et al.*, 1980). Il s'agit d'une forme activée plus réactive que les sucres activés par le brome en position anomérique. Elle est aujourd'hui très utilisée pour la synthèse de glycosides dont les saponines synthétiques (Deng *et al.*, 1999). Les trichloroacétimides (TCA) sont synthétisés par la réaction du trichloroacétonitrile sur la fonction hydroxyle du carbone anomérique d'un sucre protégé en présence d'une base (DBU,  $K_2CO_3$ ,  $Cs_2CO_3$ ). L'utilisation la plus courante des TCA est la réaction avec une fonction alcool (aglycone) en présence d'un catalyseur, un acide de Lewis ( $BF_3Et_2O$ , TMSOTf). Durant cette réaction, l'utilisation des groupements protecteurs participants (acétates, benzoyles) favorise la formation de liens 1,2-*trans*-glycosidiques tels que montrés à l'annexe 1 (Schmidt, 1986).

## **Chapitre 3**

### **PARTIE EXPÉRIMENTALE**

Le chapitre III comporte les modes opératoires pour la synthèse des molécules, les analyses détaillées, les résultats ainsi que le matériel utilisé pour la caractérisation des composés. La partie expérimentale est rédigée en anglais pour faciliter la rédaction d'un article scientifique.

### 3.1 General methods

Optical rotations were obtained on a Rudolph Research Analytical AUTOPOL IV digital polarimeter. Absorption UV spectra were recorded with an Agilent 8453 diode-array spectrophotometer. FTIR spectra were conducted on a Perkin–Elmer SpectrumOne. The 1D and 2D NMR spectra ( $^1\text{H}$ – $^1\text{H}$  COSY, HSQC, HMBC and NOESY) were performed using an Avance 400 Bruker spectrometer (400.13 MHz for  $^1\text{H}$ , 100.61 MHz for  $^{13}\text{C}$  spectra) equipped with a 5 mm QNP-probe. All spectra were acquired in  $\text{CDCl}_3$  or  $\text{CD}_3\text{OD}$ , pyridine- $d_5$ , and chemical shifts are reported in ppm ( $\delta$ ) relative to TMS. The modulus of coupling constants ( $J$ ), extracted from the  $^1\text{H}$  NMR spectrum, are reported in Hz. Accurate mass measurements (HRESIMS) were performed on a 6210 TOF-MS instrument from Agilent Technologies in positive electrospray mode. Flash chromatography was carried out using 60-230 mesh silica gel (purchased from Canadian Life Science). Analytical thin-layer chromatography was performed with silica gel 60 F<sub>254</sub>, 0,2 mm pre-coated TLC (purchased from Silicycle) plates and visualized using UV<sub>254</sub> and cerium molybdate (CAM) (1 g  $\text{MoO}_4(\text{NH}_4)_2$ , 0.05 g  $\text{Ce}(\text{SO}_4)_4(\text{NH}_4)_4$ , 200 mL  $\text{H}_2\text{O}$ , 15 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) with charring. The solvents were purchased from Fisher Scientific and all other chemicals and materials were bought from Sigma-Aldrich.

Sugar imidates were obtained according to the Schmidt procedure (**A**) starting from free sugars. The first step is the perbenzoylation made in the presence of benzoyl chloride and pyridine catalyzed by 4-dimethylaminopyridine at 0 °C. The reaction was performed for 24 h at room temperature. After the completion of the reaction monitored by TLC, the reaction was quenched with methanol. The second step is the free anomeric position sugar was made in the presence of hydrobromic acid at room temperature. After 4 h, the completion of the reaction was monitored by TLC and the reaction mixture washed with sodium bicarbonate. The

bromine product obtained was allowed to react with silver carbonate, acetone and water (Koenigs-Knorr) at room temperature during 1 h. After the completion of the reaction monitored by TLC, the reaction mixture was filtrated on Celite<sup>®</sup>. The last step was the trichloroacetimidate formation in the presence of trichloroacetonitrile and cesium carbonate at room temperature during 4 h. After the completion monitored by TLC, the reaction was filtrated.

Glycosylations were performed according to the procedure **B** starting from donor and acceptor of glycosides. First, the donors of glycoside (sugar imidate) and the acceptor of glycoside (aglycon) were dissolved in methylene chloride for 1h with 4 Å MS at -16 °C. Lewis acid (Trimethylsilyl trifluoromethanesulfonate or boron trifluoride diethyl etherate) was then added for the glycosylation. The reaction was performed for 20 min at room temperature. The completion of the reaction was monitored by TLC and quenched by triethylamine.

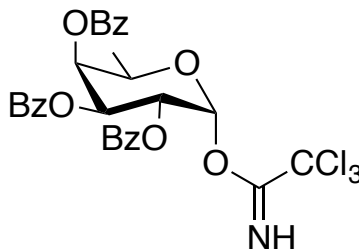
*Trans*-esterification procedures were made according to the Zemplen procedure **C** starting with the products obtained from the glycosylation procedures. Sodium methanolate solution was prepared in the presence of metal sodium and methanol. The products of the glycosylation procedures were mixed with the sodium methanolate solution, all dissolved in methylene chloride. The reaction was performed for 12 h at room temperature and monitored by TLC. The reaction was quenched with Dowex resin G-26 (H<sup>+</sup>) and filtrated.



### 3.2 General procedure for the preparation of sugars

#### Procedure A:

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-fucopyranosyl trichloroacetimidate (27) according to the general procedure A:**



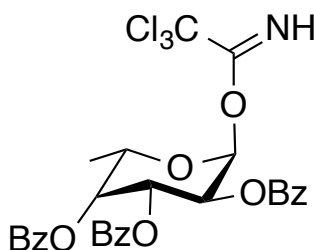
2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-fucopyranosyl trichloroacetimidate (27)

To a cooled solution (ice-water bath) of D-fucopyranoside (**15**) (10.0 g, 60.9 mmol) in anhydrous pyridine (140 mL) with DMAP (73 mg 0.6 mmol) was slowly added BzCl (42 mL, 365 mmol) over 20 minutes. The reaction was performed overnight at room temperature and monitored by TLC (mid TLC hexanes:ethyl acetate 5:5). The reaction was quenched with methanol (20 mL), diluted with DCM (50 mL) and washed with cold aqueous H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 3 N (3 x 30 mL), saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (3 x 15 mL) solution and brine (3 x 30 mL). The organic layer was dried with MgSO<sub>4</sub> and evaporated under reduced pressure. The crude benzoylated fucose derivative was immediately dissolved in DCM (35 mL) without further purification. A solution of HBr in HOAc (33%, 21 mL) was added at room temperature. After 4 h, the reaction was washed with saturated NaHCO<sub>3</sub> (3 x 30 mL) solution and brine (3 x 30 mL). The organic layer was dried with MgSO<sub>4</sub>, filtered and evaporated under reduced pressure. The residue was taken up in acetone (45 mL), distilled water (2 mL) and Ag<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (25.1 g, 91.3 mmol) was added. Hydrolysis was performed for 1 hour at room temperature then filtered through a Celite<sup>®</sup> bed. The filtrate was dried with MgSO<sub>4</sub>, evaporated under reduced pressure and the crude residue dissolved in DCM (35 mL). CCl<sub>3</sub>CN (36 mL, 365 mmol) and Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.9 g, 18.3 mmol) were added and the reaction performed for 4 h at room temperature. The reaction was filtrated, evaporated under reduced pressure and the residue was purified by flash

chromatography (hexanes/ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to give **(27)** as a white powder (20.6 g, 54 %, 4 steps):  $R_f = 0.56$  (hexanes:ethyl acetate 8:2);  $[\alpha]_D^{20} +33.59$  (c 0.67,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.61 (s, 1H, H-2 *ph*), 8.12 - 7.28 (m, 15H, H-*arom*), 6.84 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 6.05 (dd,  $J = 10.7, 3.3$  Hz, 1H, H-3), 5.92 (dd,  $J = 10.7, 3.6$  Hz, 1H, H-2), 5.88 (d,  $J = 3.3$  Hz, 1H, H-4), 4.64 (t,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-5), 1.34 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, H-6).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.87 - 165.62 (3 x CO), 160.81 (*Cq-I ph*), 133.58 - 128.31 (18 x C-*Arom*), 94.14 (C-1), 90.94 (C-3, *ph*), 71.32 (C-4), 68.69 (C-3), 68.09 (C-5), 67.87 (C-2'), 16.22 (C-6). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl trichloroacetimidate (**28**) according to the general procedure A:**

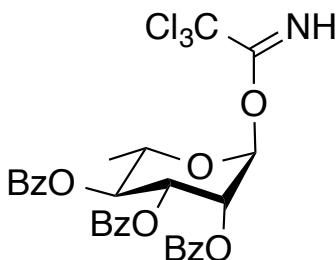


2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-fucopyranosyl trichloroacetimidate (**28**)

Starting with a solution of the L-fucopyranoside (**16**) (10 g, 60.9 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield **(28)** as a white powder (19.9 g, 53 %, 4 steps) :  $R_f = 0.54$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} -45.58$  (c 0.63,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.60 (s, 1H, H-2 *ph*), 8.14 - 7.23 (m, 15H, H-*Arom*), 6.83 (d,  $J = 3.6$  Hz, 1H, H-1), 6.04 (dd,  $J = 10.7, 3.3$  Hz, 1H, H-3), 5.92 (dd,  $J = 10.7, 3.6$  Hz, 1H, H-2), 5.90 - 5.87 (m, 1H, H-4), 4.65 (q,  $J = 6.3$  Hz, 1H, H-5), 1.33 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, H-6).  $^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.88 - 165.63 (3 x CO), 160.83 (*Cq, Cq-I, ph*), 133.58 - 128.31 (18 x C-*Arom*), 94.15 (C-1), 90.95 (C-3, *ph*), 71.33 (C-4), 68.69 (C-3), 68.10 (C-5), 67.88 (C-2), 16.22 (C-6). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl trichloroacetimidate (26) according to the general procedure A:**

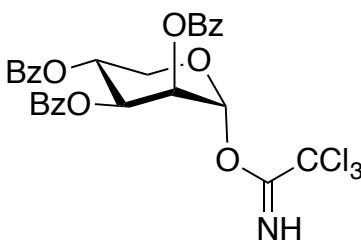


2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl trichloroacetimidate (**26**)

Starting with a solution of L-rhamnopyranoside (**17**) (5 g, 34.2 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**26**) as a white powder (11.6 g, 55 %, 4 steps):  $R_f$  = 0.55 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +84,35 (c 1,13, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Gauthier *et al.*, 2006).

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl trichloroacetimidate (29) according to the general procedure A:**



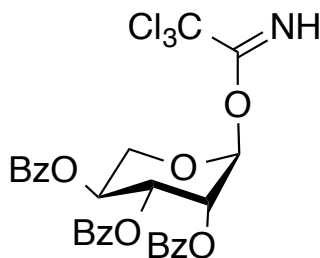
2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl trichloroacetimidate (**29**)

Starting with a solution of D-lyxopyranoside (**18**) (4 g, 33.3 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**29**) as a white

powder (8.2 g, 41 %, 4 steps) :  $R_f = 0.33$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} -99.84$  (c 0.51,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.89 (s, 1H, H-2 *ph*), 8.18 - 7.36 (m, 15H, H-*arom*), 6.53 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H, H-1), 6.05 (dd,  $J = 9.9, 3.5$  Hz, 1H, H-4), 5.96 (dd,  $J = 3.5, 2.4$  Hz, 1H, H-2), 5.90 (q,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H-3), 4.43 (dd,  $J = 11.3, 5.4$  Hz, 1H, H-5a), 4.17 - 4.12 (m, 1H, H-5b).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.69 - 165.21 (3 x CO), 160.10 ( $C_q$ , C-1 *ph*) 133.74 - 128.40 (18 x C-*arom*), 94.78 (C-1), 90.63 (C-3 *ph*), 69.00 (C-4), 68.88 (C-2), 67.05 (C-3), 62.25 (C-5). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl trichloroacetimidate (**30**) according to the general procedure A:**

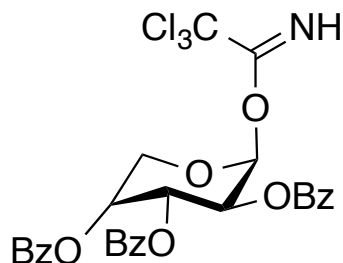


2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl trichloroacetimidate (**30**)

Starting with a solution of L-lyxopyranoside (**19**) (4 g, 33.3 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**30**) as a white powder (9.5 g, 47 %, 4 steps) :  $R_f = 0.34$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} + 100.8$  (c 0.3,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.84 (s, 1H, H-2 *ph*), 8.13 - 7.31 (m, 15H, H-*arom*), 6.48 (d,  $J = 2.4$  Hz, 1H, H-1), 6.00 (dd,  $J = 9.8, 3.5$  Hz, 1H, H-3), 5.91 (t,  $J = 3.0$  Hz, 1H, H-2), 5.85 (q,  $J = 4.6$  Hz, 1H, H-4), 4.38 (dd,  $J = 11.3, 5.4$  Hz, 1H, H-5a), 4.11 (d,  $J = 10.6$  Hz, 1H, H-5b).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.71 - 165.23 (3 x CO), 160.15 ( $C_q$ , C-1 *ph*), 133.75 - 128.41 (18 x C-*arom*), 94.79 (C-1), 90.65 (C-3 *ph*), 69.00 (C-3), 68.90 (C-2), 67.06 (C-4), 62.26 (C-5). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-arabinopyranosyl trichloroacetimidate (31) according to the general procedure A:**

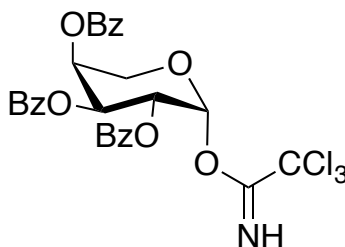


2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-arabinopyranosyl trichloroacetimidate (**31**)

Starting with a solution of D-arabinopyranoside (**20**) (5 g, 33.3 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**31**) as a white powder (10.5 g, 52 %, 4 steps) :  $R_f$  = 0.36 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  -176,38 (c 1,45, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Gauthier *et al.*, 2006).

**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl trichloroacetimidate (32) according to the general procedure A:**

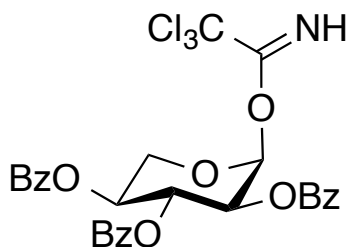


2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl trichloroacetimidate (**32**)

Starting with a solution of L-arabinopyranoside (**21**) (5 g, 33.3 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**32**) as a white powder (10 g, 50 %, 4 steps) :  $R_f$  = 0.38 (hexanes:ethyl acetate, 8:2)

$^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Plé *et al.*, 2004).

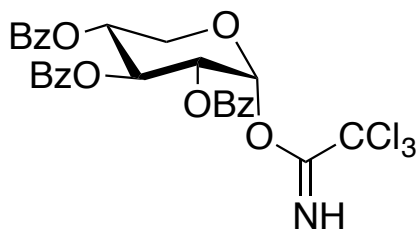
**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-xylopyranosyl trichloroacetimidate (33) according to the general procedure A:**



2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-xylopyranoside trichloroacetimidate (**33**)

Starting with a solution of L-xylopyranoside (**23**) (5 g, 33 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**33**) as a white solid (9,3 g, 47 %, 4 steps) :  $R_f = 0.32$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} +35,29$  (c 2,48,  $\text{CHCl}_3$ )  $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Mikkelsen *et al.*, 1995).

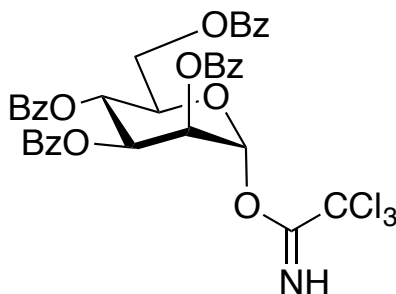
**Synthesis of 2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-xylopyranosyl trichloroacetimidate (34) according to the general procedure A:**



2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-xylopyranosyl trichloroacetimidate (**34**)

Starting with a solution of D-xylopyranoside (**22**) (2 g, 13 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**34**) as a white powder (1.67 g, 21 %, 4 steps) :  $R_f = 0.30$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} -19,57$  (c 1,15,  $\text{CHCl}_3$ )  
 $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Chen *et al.*, 2002).

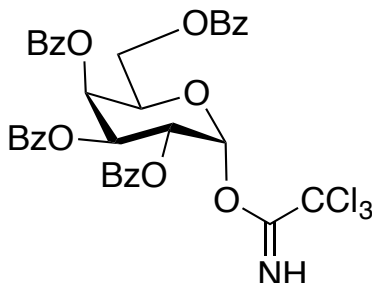
**Synthesis of 2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl trichloroacetimidate (**35**) according to the general procedure A:**



2,3,4,6-tetra-O-benzoyl- $\alpha$ -D-mannopyranosyl trichloroacetimidate (**35**)

Starting with a solution of D-mannopyranoside (**24**) (10 g, 55 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**35**) as a white powder (20.7 g, 51 %, 4 steps) :  $R_f = 0.34$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} -35,67$  (c 1,45,  $\text{CHCl}_3$ )  
 $^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Bien *et al.*, 1998).

Synthesis of 2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl trichloroacetimidate (**36**) according to the general procedure A:



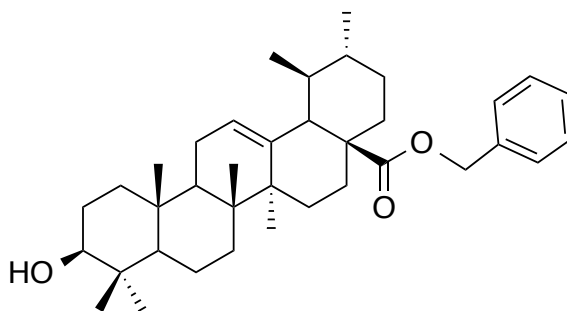
2,3,4,6-tetra-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-galactopyranosyl trichloroacetimidate (**36**)

Starting with a solution of D-galactopyranoside (**25**) (10 g, 55 mmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**36**) as a white powder (20.3 g, 50 %, 4 steps) :  $R_f$  = 0.36 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +118,83 (c 1,05, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Rio *et al.*, 1994).

### 3.3 General procedure for the preparation of aglycons

Synthesis of benzyl ursolate (**37**):



Benzyl ursolate (**37**)

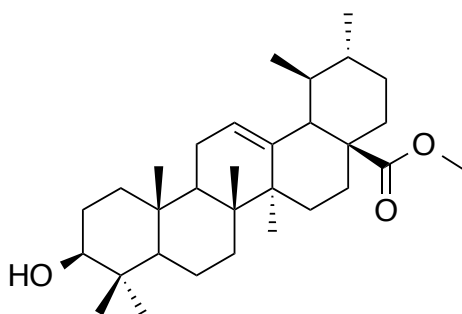
To a solution of ursolic acid (**7**) (1000 mg, 2180  $\mu$ mol) in dry THF (20 mL) under inert



atmosphere (Ar) were added under Bu<sub>4</sub>Ni (863 mg, 2338  $\mu$ mol), BnBr (378  $\mu$ L, 3190  $\mu$ mol) and Et<sub>3</sub>N (460  $\mu$ L, 3280  $\mu$ mol). The mixture was stirred overnight at room temperature, monitored by TLC in (mid TLC hexanes:ethyl acetate, 7:3) and evaporated under reduce pressure to give a yellow solid. The residue was purified by flash chromatography (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**37**) as a yellow powder (1050 mg, 81 %) :  $R_f$  = 0.28 (hexanes:ethyl acetate, 8:2)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Yu Sha *et al.*, 2008).

### Synthesis of methyl ursolate (**38**):

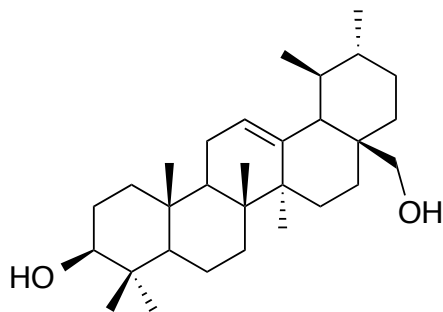


Methyl ursolate (**38**)

To a solution of ursolic acid (**7**) (1000 mg, 2180  $\mu$ mol) in dry THF under inert atmosphere (Ar) were added NaH (62 mg, 2620  $\mu$ mol) and CH<sub>3</sub>I (0.2 mL, 3280  $\mu$ mol). The reaction was stirred overnight at room temperature, monitored by TLC and quenched with methanol (10 mL). The mixture was evaporated under reduced pressure to give a yellow solid. The residue was acidified with HCl 3 N and extracted with CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (3 x 10 mL). The organic layers were washed with H<sub>2</sub>O (30 mL), dried with MgSO<sub>4</sub> and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**38**) as a white powder (970 mg, 79 %) :  $R_f$  = 0.51 (hexanes:ethyl acetate, 8:2)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Pádua *et al.*, 2014).

### Synthesis of Uvaol (8):



Uvaol (8)

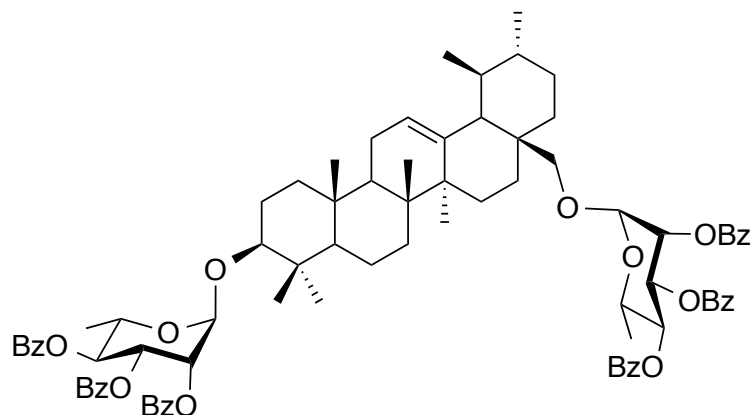
To a cooled solution (ice-water bath) of methyl ursolate (**38**) (250 mg, 530  $\mu\text{mol}$ ) in dry diethyl ether (30 mL) under inert atmosphere (Ar) was added  $\text{LiAlH}_4$  (30.2 mg, 750  $\mu\text{mol}$ ). The reaction was stirred overnight at room temperature, monitored by TLC in (mid TLC hexanes:ethyl acetate, 8:2) and quenched with ethanol (5 mL), methanol (5 mL) and water (5 mL). The mixture was filtered through a Celite<sup>®</sup> bed, diluted with  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (30 mL) and evaporated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography (hexane:ethyl acetate, 8:2) to yield (**8**) as a white powder (250 mg, 94%) :  $R_f = 0.51$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2)

$^1\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR spectral data were in agreement with those reported in the literature (Liao *et al.*, 2014).

### 3.4 General procedure for the glycosylation

#### Procedure B:

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**) according to the general procedure B:**



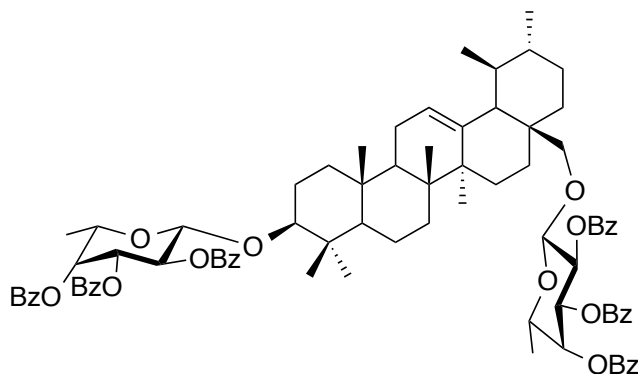
3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)

A solution of acceptor (**8**) (50 mg, 110  $\mu$ mol) and donor (**26**) (140 mg, 225  $\mu$ mol) under inert atmosphere (Ar) were stirred in dry  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) for 1 h with 4 Å molecular sieves at -16 °C (carbonic ice-acetone bath). TMSOTf (1.85  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol) was added while keeping rigorous anhydrous conditions. After 15 min, the reaction was quenched with  $\text{Et}_3\text{N}$  (35  $\mu$ L). The solvents were evaporated under reduced pressure and the residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 8:2) to yield (**39**) as a white powder (108.5 mg, 73%) :  $R_f = 0.31$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} +19.24$  ( $c$  0.18,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.14 – 7.24 (m, 30H, H-*arom*), 5.83 (d,  $J = 13.1$  Hz, 1H, H-3''), 5.79 (d,  $J = 3.4$  Hz, 1H, H-3'), 5.69 (s, 1H, H-4''), 5.67 (s, 1H, H-4'), 5.65 (s, 1H, H-2''), 5.63 (s, 1H, H-2'), 5.20 (s, 1H, H-12), 5.09 (s, 1H, H-1'), 4.91 (s, 1H, H-1''), 4.31 (dd,  $J = 9.7, 6.3$  Hz, 1H, H-5''), 4.17 (dd,  $J = 9.7, 6.1$  Hz, 1H, H-5'), 3.46 (d,  $J = 9.1$  Hz, 1H, H-28a), 3.35 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H, H-28b), 3.24 (t,  $J = 8.1$  Hz, 1H, H-3), 2.08 – 1.97 (m, 1H, H-11a), 1.97 – 1.90 (m, 2H, H-16), 1.86 – 1.64 (m, 5H, H-1a, H-2a, H-15a, H-22), 1.63 – 1.38 (m, 9H, H-1b, H-2b, H-6a, H-7, H-9, H-18, H-20, H-21a), 1.37 – 1.31 (m, 8H, H-6', H-6'', H-6b, H-11b), 1.26 (s, 1H, H-21b), 1.14 (s, 3H, H-27), 1.08 (s, 3H, H-23), 1.03 (s, 4H, H-15b, H-26), 1.01 – 0.97 (m, 7H, H-19, H-25, H-30), 0.95 (s, 3H, H-24), 0.86 (d,  $J = 6.2$  Hz, 3H, H-29), 0.79 (d,  $J$

= 11.2 Hz, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.86 - 165.59 (6 x CO), 139.02 ( $\text{C}_q$ -13), 133.41 - 128.27 (36 x C-*arom*), 125.17 (C-12), 99.75 (C-1'), 97.80 (C-1''), 89.97 (C-3), 75.26 (C-28), 71.99 (C-3''), 71.94 (C-3'), 71.22 (C-2''), 70.91 (C-2'), 70.29 (C-4'), 70.16 (C-4''), 66.77 (C-5''), 66.54 (C-5'), 55.36 (C-5), 54.37 (C-18), 47.62 (C-9), 42.05 ( $\text{C}_q$ -14), 40.07 ( $\text{C}_q$ -8), 39.41 (C-20), 39.30 (C-19), 39.07 ( $\text{C}_q$ -4), 38.77 (C-2), 37.51 ( $\text{C}_q$ -17), 36.61 ( $\text{C}_q$ -10), 35.90 (C-1), 32.78 (C-7), 30.71 (C-21), 28.37 (C-23), 26.12 (C-15), 25.49 (C-22), 23.74 (C-11), 23.48 (C-16), 23.38 (C-27), 21.34 (C-30), 18.27 (C-6), 17.78 (C-29), 17.57 (C-6'), 17.41 (C-6''), 16.89 (C-26), 16.62 (C-24), 15.75 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2, 3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**) according to the general procedure B:**



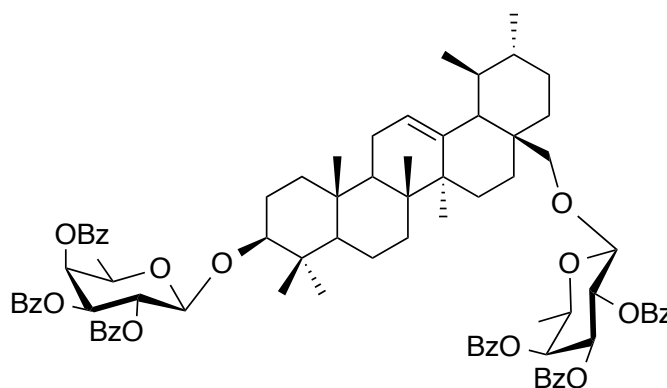
3,28-di-*O*-(2, 3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

Starting with a solution of acceptor (**8**) (45 mg, 101  $\mu\text{mol}$ ) and donor (**28**) (138.5 mg, 224  $\mu\text{mol}$ ) and TMSOTf (1.8  $\mu\text{L}$ , 10  $\mu\text{mol}$ ). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**40**) as a white powder (113.9 mg, 83 %) :  $R_f$  = 0.21 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +37.39 ( $c$  0.46,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.14 - 7.23 (m, 30H, H-*arom*), 5.74 - 5.71 (m, 1H, H-2''), 5.71 (s, 1H, H-2'), 5.69 (s, 1H, H-4'), 5.68 (s, 1H, H-4''), 5.57 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 1H, H-3'), 5.55 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 1H, H-3''), 4.96 (s, 1H, H-12), 4.80 (d,  $J$  = 7.8 Hz, 1H, H-1'), 4.60 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H, H-1''), 4.02 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 1H, H-5'), 3.98 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 1H, H-5''), 3.67 (d,  $J$  = 9.7 Hz,

1H, H-28a), 3.32 (dd,  $J = 11.8, 4.2$  Hz, 1H, H-3), 3.25 (d,  $J = 9.7$  Hz, 1H, H-28b), 2.16 (s, 1H, H-21a), 1.94 – 1.86 (m, 1H, H-11a), 1.86 – 1.83 (m, 2H, H-15a, H-22a), 1.81 (d,  $J = 12.2$  Hz, 1H, H-16a), 1.70 – 1.59 (m, 1H, H-2a), 1.59 – 1.41 (m, 4H, H-1a, H-6a, H-7a, H-9), 1.40 – 1.32 (m, 6H, H-6b, H-7b, H-11b, H-16b, H-18, H-22b), 1.32 – 1.29 (m, 6H, H-6', H-6''), 1.28 – 1.20 (m, 2H, H-1b, H-20, H-21b), 1.11 (s, 1H, H-15b), 1.08 (s, 3H, H-23), 1.03 (s, 3H, H-27), 0.98 (s, 3H, H-26), 0.95 – 0.87 (m, 1H, H-2b), 0.85 (s, 3H, H-25), 0.75 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H, H-30), 0.72 – 0.70 (m, 4H, H-5, H-24), 0.49 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H, H-29), 0.45 (s, 1H, H-19).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.18, 165.22 (6 x CO), 139.29 ( $\text{C}_q$ -13), 133.39 – 128.25 (36 x C-*arom*), 124.95 (C-12), 102.21 (C-1''), 98.76 (C-1'), 84.94 (C-3), 76.55 (C-28), 72.34 (C-3''), 71.95 (C-3'), 71.34 (C-2'), 71.26 (C-2''), 70.10 (C-4'), 69.98 (C-4''), 69.58 (C-5''), 69.45 (C-5'), 55.70 (C-5), 53.08 (C-18), 47.54 (C-9), 41.82 ( $\text{C}_q$ -14), 40.06 ( $\text{C}_q$ -8), 39.06 (C-20), 38.87 (C-19), 38.49 (C-2), 38.18 ( $\text{C}_q$ -4), 37.88 ( $\text{C}_q$ -17), 36.62 ( $\text{C}_q$ -10), 34.60 (C-1), 32.64 (C-7), 30.55 (C-21), 28.08 (C-23), 25.86 (C-15), 24.19 (C-22), 23.43 (C-11), 23.32 (C-27), 22.88 (C-16), 21.11 (C-30), 18.30 (C-6), 16.91 (C-29), 16.55 (C-26), 16.37 (C-24), 16.32 (C-6'), 16.31 (C-6''), 15.60 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (41) according to the general procedure B:**



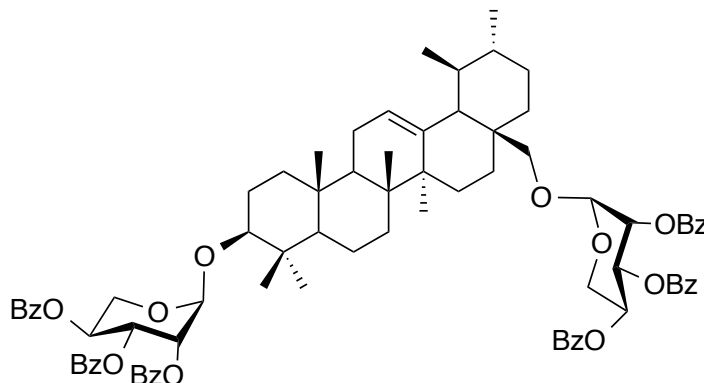
3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)

Starting with a solution of acceptor (**8**) (35 mg, 79  $\mu\text{mol}$ ) and donor (**27**) (120 mg, 190  $\mu\text{mol}$ )

and TMSOTf (1.4  $\mu$ L, 8  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**41**) as a white powder (86.9 mg, 81 %) :  $R_f$  = 0.21 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +37.39 (c 0.46,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 - 7.28 (m, 30H, H-*arom*), 5.82 - 5.75 (m, 1H, H-2'), 5.72 (d,  $J$  = 10.6 Hz, 1H, H-2''), 5.69 (s, 1H, H-4'), 5.69 - 5.66 (m, 1H, H-4''), 5.60 - 5.56 (m, 1H, H-3'), 5.56 - 5.52 (m, 1H, H-3''), 5.08 (s, 1H, H-12), 4.79 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H, H-1'), 4.56 (d,  $J$  = 7.9 Hz, 1H, H-1''), 4.05 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 1H, H-5'), 4.02 (d,  $J$  = 6.7 Hz, 1H, H-5''), 3.52 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H, H-28a), 3.38 (d,  $J$  = 9.0 Hz, 1H, H-28b), 3.16 (dd,  $J$  = 11.7, 4.6 Hz, 1H, H-3), 2.17 (s, 1H, H-21a), 1.96 - 1.78 (m, 6H, H-1a, H-11, H-15a, H-22), 1.69 - 1.57 (m, 2H, H-2a, H-16a), 1.46 - 1.35 (m, 3H, H-9, H-15b, H-21b), 1.35 - 1.30 (m, 7H, H-6', H-6'', H-6a), 1.29 - 1.17 (m, 5H, H-1b, H-6b, H-7a, H-18, H-20), 1.16 - 1.05 (m, 1H, H-16b), 1.04 - 0.96 (m, 1H, H-2b), 0.94 - 0.90 (m, 6H, H-25, H-27), 0.90 - 0.85 (m, 7H, H-19, H-26, H-29), 0.77 - 0.73 (m, 7H, H-7b, H-23, H-30), 0.69 (s, 3H, H-24), 0.62 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.18 - 165.08 (6 x CO), 138.81 ( $\text{C}_q$ -13), 133.40 - 128.20 (36 x C-*arom*), 124.95 (C-12), 103.63 (C-1'), 102.47 (C-1''), 90.40 (C-3), 78.01 (C-28), 72.17 (C-3'), 72.02 (C-3''), 71.22 (C-4'), 71.17 (C-4''), 70.14 (C-2'), 69.71 (C-2''), 69.60 (C-5'), 69.49 (C-5''), 55.44 (C-5), 54.47 (C-18), 47.54 (C-9), 41.81 ( $\text{C}_q$ -14), 39.83 ( $\text{C}_q$ -8), 39.37 (C-20), 39.12 (C-19), 38.85 (C-4), 38.80 (C-2), 37.48 ( $\text{C}_q$ -17), 36.76 (C-1), 36.50 ( $\text{C}_q$ -10), 32.26 (C-7), 30.50 (C-21), 27.76 (C-23), 25.97 (C-15), 25.92 (C-22), 23.32 (C-11), 23.11 (C-27), 22.21 (C-16), 21.29 (C-30), 17.97 (C-6), 17.30 (C-29), 16.70 (C-26), 16.46 (C-24), 16.34 (C-6'), 16.31 (C-6''), 15.62 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3, 28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**) according to the general procedure B:**



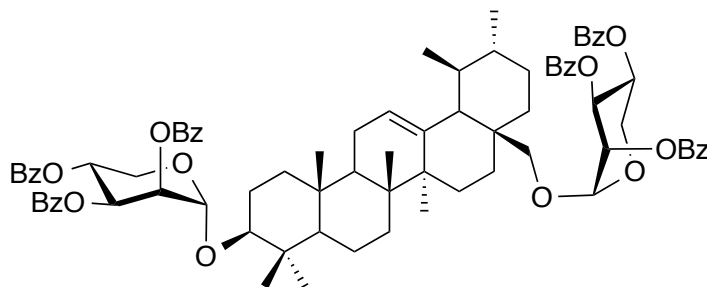
3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**)

Starting with a solution of acceptor (**8**) (50 mg, 113  $\mu$ mol) and donor (**30**) (151 mg, 248  $\mu$ mol) and TMSOTf (2  $\mu$ L, 11  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**42**) as a white powder (123.3 mg, 82%) :  $R_f$  = 0.34 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +86.16 (c 0.72, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.11 - 7.32 (m, 30H, H-*arom*), 5.95 - 5.91 (m, 1H, H-3'), 5.91 - 5.87 (m, 1H, H-3''), 5.78 - 5.73 (m, 1H, H-4'), 5.73 - 5.69 (m, 1H, H-4''), 5.68 (t,  $J$  = 2.9 Hz, 1H, H-2''), 5.66 (d,  $J$  = 3.0 Hz, 1H, H-2'), 5.14 (s, 1H, H-12), 5.10 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H, H-1'), 4.92 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H, H-1''), 4.17 - 4.14 (m, 1H, H-5'a), 4.13 - 4.10 (m, 1H, H-5''a), 4.03 (t,  $J$  = 10.4 Hz, 1H, H-5'b), 3.90 (t,  $J$  = 10.3 Hz, 1H, H-5''b), 3.44 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H, H-28a), 3.37 (d,  $J$  = 9.1 Hz, 1H, H-28b), 3.23 (t,  $J$  = 8.2 Hz, 1H, H-3), 1.96 - 1.85 (m, 2H, H-11a, H-16a), 1.83 - 1.80 (m, 1H, H-15a), 1.79 (s, 1H, H-1), 1.77 - 1.61 (m, 3H, H-2, H-6a), 1.59 - 1.22 (m, 13H, H-1b, H-6b, H-7, H-9, H-11b, H-16b, H-18, H-20, H-21, H-22), 1.10 (s, 3H, H-27), 1.06 (s, 3H, H-23), 1.03 (s, 1H, H-15b), 0.99 (s, 3H, H-26), 0.97 - 0.89 (m, 10H, H-19, H-24, H-25, H-29), 0.83 (t,  $J$  = 2.9 Hz, 3H, H-30), 0.78 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  165.96 - 165.38 (6 x CO), 138.93 (C<sub>q</sub>-13), 134.10 - 128.47 (36 x C-*arom*), 125.31 (C-12), 100.07 (C-1'), 98.33 (C-1''), 90.07 (C-3), 77.36 (C-28), 70.97 (C-3'), 70.56 (C-3''), 69.70 (C-2''), 69.61 (C-2'), 68.25 (C-4'), 68.17 (C-4''), 60.34 (C-5'), 60.13 (C-5''), 55.44 (C-5), 54.63

(C-18), 47.71 (C-9), 42.10 (C<sub>q</sub>-14), 40.15 (C<sub>q</sub>-8), 39.55 (C-20), 39.34 (C-19), 39.19 (C<sub>q</sub>-4), 37.60 (C<sub>q</sub>-17), 36.68 (C<sub>q</sub>-10), 36.39 (C-1), 32.81 (C-7), 30.75 (C-2), 29.82 (C-21), 28.42 (C-23), 26.24 (C-15), 25.64 (C-22), 23.53 (C-16), 23.48 (C-27), 23.30 (C-11), 21.44 (C-29), 18.34 (C-6), 17.49 (C-30), 16.89 (C-26), 16.71 (C-24), 15.85 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**) according to the general procedure B:**



3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**)

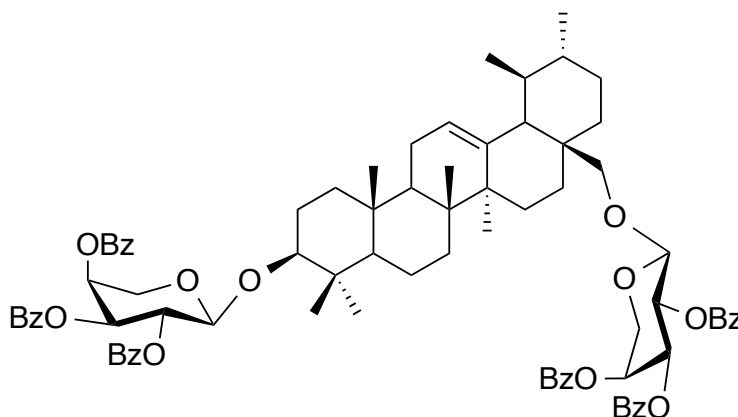
Starting with a solution of acceptor (**8**) (40 mg, 90  $\mu$ mol) and donor (**29**) (120 mg, 198  $\mu$ mol) and TMSOTf (2  $\mu$ L, 5  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**43**) as a white powder (100.6 mg, 84%) :  $R_f$  = 0.32 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  -76.34 (c 0.63, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.16 - 7.28 (m, 30H, H-*arom*), 5.95 - 5.91 (m, 1H, H-3'), 5.91 - 5.87 (m, 1H, H-3''), 5.81 - 5.75 (m, 1H, H-4'), 5.75 - 5.70 (m, 1H, H-4''), 5.70 - 5.67 (m, 1H, H-2''), 5.61 - 5.57 (m, 1H, H-2'), 5.21 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H, H-1'), 5.16 (s, 1H, H-12), 4.92 (d,  $J$  = 2.0 Hz, 1H, H-1''), 4.22 - 4.16 (m, 1H, H-5'a), 4.16 - 4.11 (m, 1H, H-5''a), 4.00 (t,  $J$  = 10.5 Hz, 1H, H-5'b), 3.89 (t,  $J$  = 10.4 Hz, 1H, H-5''b), 3.82 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H, H-28a), 3.35 (dd,  $J$  = 11.5, 4.3 Hz, 1H, H-3), 3.06 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1H, H-28b), 2.05 - 1.89 (m, 1H, H-11a), 2.05 - 1.89 (m, 1H, H-16a), 1.88 - 1.79 (m, 1H, H-15a), 1.77 (s, 1H, H-2a), 1.71 (d,  $J$  = 13.9 Hz, 1H, H-1a), 1.63 - 1.31 (m, 10H, H-2b, H-6, H-7, H-9, H-11b, H-16b, H-18, H-20), 1.27 - 1.25 (m, 4H, H-21, H-22), 1.14 - 1.10 (m, 6H, H-23, H-27), 1.09 - 1.04 (m, 1H, H-15b), 1.02 (s, 3H, H-



26), 1.00 - 0.97 (m, 4H, H-1b, H-25), 0.96 - 0.93 (m, 6H, H-24, H-29), 0.90 (s, 1H, H-19), 0.81 (d,  $J = 5.2$  Hz, 3H, H-30), 0.79 - 0.76 (m, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  166.23 - 163.76 (6 x CO), 139.28 ( $\text{C}_q$ -13) 133.48 - 128.27 (36 x C-*arom*), 124.97 (C-12), 98.46 (C-1''), 94.08 (C-1'), 83.56 (C-3), 76.17 (C-28), 71.32 (C-2'), 70.26 (C-2''), 69.26 (C-3'), 69.21 (C-3''), 67.80 (C-4''), 67.67 (C-4'), 60.17 (C-5'), 59.85 (C-5''), 55.23 (C-5), 54.00 (C-18), 47.37 (C-9), 41.82 ( $\text{C}_q$ -14), 40.07 ( $\text{C}_q$ -8), 39.10 (C-20), 38.96 (C-19), 38.48 ( $\text{C}_q$ -4), 38.07 (C-1), 36.62 ( $\text{C}_q$ -10), 37.89 ( $\text{C}_q$ -17), 35.39 (C-2), 32.57 (C-7), 29.44 (C-21), 28.51 (C-23), 25.82 (C-15), 24.19 (C-22), 23.17 (C-16), 23.12 (C-11), 23.05 (C-27), 21.05 (C-29), 17.04 (C-30), 16.54 (C-26), 16.41 (C-24), 15.48 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**) according to the general procedure B:**



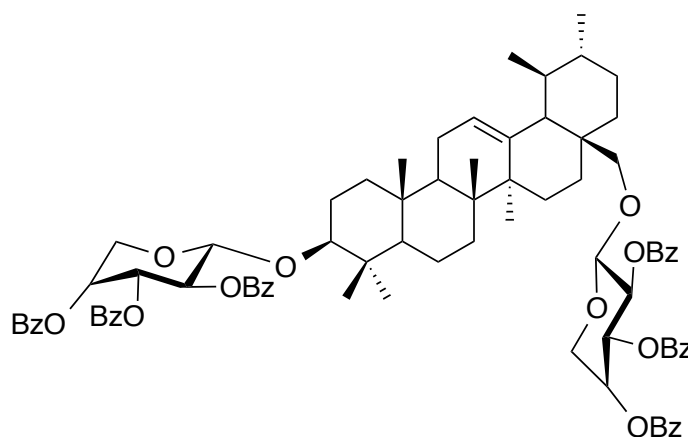
3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

Starting with a solution of acceptor (**8**) (55 mg, 124  $\mu\text{mol}$ ) and donor (**32**) (165.9 mg, 273  $\mu\text{mol}$ ) and TMSOTf (2.3  $\mu\text{L}$ , 12  $\mu\text{mol}$ ). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**44**) as a white powder (133.6 mg, 81%) :  $R_f = 0.35$  (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20} +74.95$  (c 0.21,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.10 - 7.27 (m, 30H, H-*arom*), 5.82 - 5.76 (m, 1H, H-2'), 5.76 - 5.71 (m, 1H, H-2''), 5.67 (s, 2H, H-4', H-4''), 5.63 - 5.59 (m, 1H, H-3'), 5.59 - 5.56 (m, 1H,

H-3''), 5.07 (s, 1H, H-12), 4.78 (d,  $J = 6.5$  Hz, 1H, H-1'), 4.55 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-1''), 4.37 - 4.32 (m, 1H, H-5'a), 4.31 (s, 1H, H-5''a), 3.92 - 3.87 (m, 1H, H-5'b), 3.86 - 3.81 (m, 1H, H-5''b), 3.51 (d,  $J = 9.0$  Hz, 1H, H-28a), 3.34 (d,  $J = 8.9$  Hz, 1H, H-28b), 3.16 (dd,  $J = 11.5, 4.9$  Hz, 1H, H-3), 1.89 - 1.83 (m, 3H, H-2a, H-11a, H-16a), 1.79 (d,  $J = 11.6$  Hz, 2H, H-1a H-15a), 1.71 - 1.56 (m, 2H, H-6a, H-20), 1.46 - 1.35 (m, 3H, H-9, H-15b, H-16b), 1.35 - 1.19 (m, 7H, H-1b, H-2b, H-6b, H-7a, H-18, H-21), 1.19 - 1.07 (m, 3H, H-11b, H-22), 0.93 (s, 3H, H-27), 0.90 (s, 3H, H-25), 0.87 (d,  $J = 6.5$  Hz, 3H, H-30), 0.86 - 0.81 (m, 5H, H-7b, H-19, H-26), 0.79 (s, 3H, H-23), 0.75 (d,  $J = 6.3$  Hz, 3H, H-29), 0.68 (s, 3H, H-24), 0.65 (s, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.82 - 165.00 (6 x CO, 138.72 ( $\text{C}_q$ -13), 133.37 - 128.30 (36 x *C-arom*), 125.02 (C-12), 103.14 (C-1'), 102.04 (C-1''), 90.09 (C-3), 76.71 (C-28), 70.81 (C-3'), 70.78 (C-3''), 70.23 (C-2'), 69.88 (C-2''), 68.73 (C-4'), 68.70 (C-4''), 63.06 (C-5'), 62.72 (C-5''), 55.38 (C-5), 54.45 (C-18), 47.53 (C-9), 41.82 ( $\text{C}_q$ -14), 39.83 ( $\text{C}_q$ -8), 39.35 (C-20), 39.11 (C-19), 38.90 ( $\text{C}_q$ -4), 38.75 (C-2), 37.44 ( $\text{C}_q$ -17), 36.66 (C-1), 36.50 ( $\text{C}_q$ -10), 32.25 (C-7), 30.47 (C-21), 27.81 (C-23), 25.97 (C-16), 25.93 (C-15), 23.32 (C-11), 23.14 (C-27), 22.36 (C-22), 21.27 (C-30), 17.99 (C-6), 17.29 (C-29), 16.60 (C-26), 16.29 (C-24), 15.64 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (45) according to the general procedure B:**

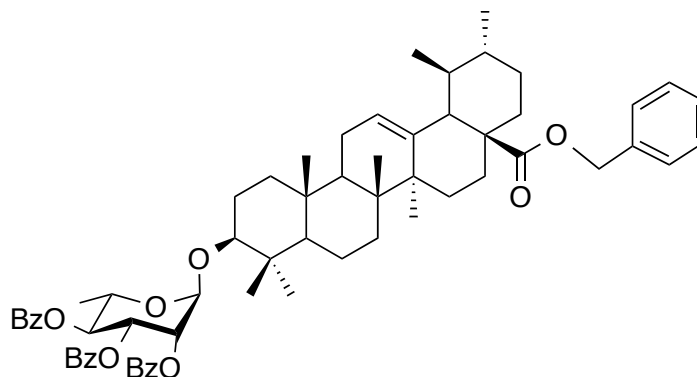


3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (45)

Starting with a solution of acceptor (**8**) (40 mg, 90  $\mu$ mol) and donor (**31**) (120.7 mg, 198  $\mu$ mol) and TMSOTf (1.6  $\mu$ L, 9  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**45**) (94.6 mg, 79%) :  $R_f$  = 0.35 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  -29.12 (c 0.16,  $\text{CHCl}_3$ )

$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 - 7.29 (m, 30H, H-*arom*), 5.70 (s, 1H, H-2''), 5.69 (s, 1H, H-4''), 5.66 (s, 1H, H-4'), 5.65 (s, 1H, H-2'), 5.61 (s, 1H, H-3''), 5.59 (s, 1H, H-3'), 4.97 (s, 1H, H-12), 4.85 (d,  $J$  = 5.7 Hz, 1H, H-1'), 4.60 (d,  $J$  = 5.9 Hz, 1H, H-1''), 4.34 (dd,  $J$  = 12.7, 4.5 Hz, 1H, H-5''a), 4.28 (dd,  $J$  = 12.7, 4.3 Hz, 1H, H-5'a), 3.92 - 3.84 (m, 1H, H-5''b), 3.84 - 3.79 (m, 1H, H-5'b), 3.68 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H, H-28a), 3.31 (dd,  $J$  = 11.8, 4.2 Hz, 1H, H-3), 3.18 (d,  $J$  = 9.6 Hz, 1H, H-28b), 1.93 - 1.86 (m, 1H, H-16a), 1.85 - 1.77 (m, 3H, H-11a, H-16b, H-21a), 1.73 (d,  $J$  = 10.4 Hz, 1H, H-15a), 1.68 (s, 1H, H-22a), 1.61 (d,  $J$  = 13.6 Hz, 1H, H-1a), 1.55 - 1.31 (m, 10H, H-2, H-6, H-7, H-9, H-18, H-20, H-22b), 1.10 (d,  $J$  = 12.7 Hz, 1H, H-11b), 1.06 (s, 3H, H-23), 1.04 - 1.00 (m, 4H, H-21b, H-27), 0.96 (s, 3H, H-26), 0.94 - 0.88 (m, 2H, H-1b, H-15b), 0.85 (s, 3H, H-25), 0.78 (d,  $J$  = 6.3 Hz, 3H, H-30), 0.73 (s, 1H, H-5), 0.70 (s, 3H, H-24), 0.57 - 0.48 (m, 4H, H-19, H-29).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  165.78 - 165.08 (6 x CO), 138.92 ( $\text{C}_q$ -13), 133.36 - 128.33 (36 x C-*arom*), 125.03 (C-12), 101.59 (C-1''), 97.69 (C-1'), 84.71 (C-3), 76.83 (C-28), 70.63 (C-3'), 70.61 (C-3''), 70.40 (C-2'), 70.36 (C-2''), 70.01 (C-4'), 68.41 (C-4''), 62.12 (C-5'), 62.12 (C-5'') 55.65 (C-5), 53.31 (C-18), 47.54 (C-9), 41.82 ( $\text{C}_q$ -14), 40.04 ( $\text{C}_q$ -8), 39.07 (C-20), 38.96 (C-19), 38.42 (C-1), 38.21 ( $\text{C}_q$ -4), 37.80 ( $\text{C}_q$ -17), 36.65 ( $\text{C}_q$ -10), 34.85 (C-2), 32.67 (C-7), 28.23 (C-23), 25.91 (C-15), 24.02 (C-21), 23.98 (C-16), 23.39 (C-11), 23.27 (C-27), 22.51 (C-22), 21.15 (C-30), 18.26 (C-6), 17.00 (C-29), 16.66 (C-26), 16.27 (C-24), 15.62 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) benzyl ursolate (46) according to the general procedure B:**



3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) benzyl ursolate (**46**)

Starting with a solution of acceptor (**7**) (60 mg, 107  $\mu$ mol) and donor (**26**) (79.5 mg, 128  $\mu$ mol) and TMSOTf (1.9  $\mu$ L, 10  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography (hexanes:ethyl acetate, 9:1 to 8:2) to yield (**46**) as a white powder (89.3 mg, 82%) :  $R_f$  = 0.52 (hexanes:ethyl acetate, 8:2);  $[\alpha]_D^{20}$  +82.57 (c 0.11,  $\text{CHCl}_3$ )

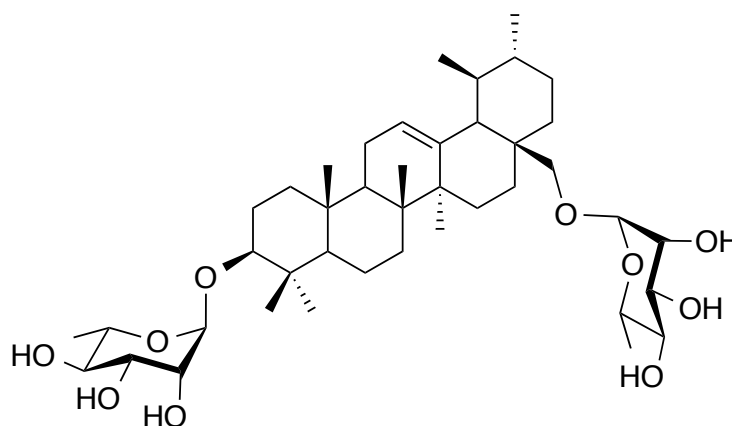
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.11 - 7.24 (m, 20H, H-*arom*), 5.84 (d,  $J$  = 10.1 Hz, 1H, H-3'), 5.71 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 1H, H-4'), 5.66 (s, 1H, H-2'), 5.25 (s, 1H, H-12), 5.13 (s, 1H, Ha, *ph*), 5.10 (s, 1H, H-1'), 4.99 (d,  $J$  = 12.3 Hz, 1H, Hb, *ph*), 4.33 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-5'), 3.24 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-3), 2.28 (d,  $J$  = 11.1 Hz, 1H, H-18), 2.00 (d,  $J$  = 13.5 Hz, 1H, H-11a), 1.94 – 1.44 (m, 15H, H-1, H-2, H-6, H-7a, H-9, H-11b, H-15a, H-16, H-21a, H-22), 1.42 – 1.25 (m, 6H, H-6', H-7b, H-20, H-21b), 1.14 – 1.03 (m, 7H, H-15b, H-23, H-27), 1.01 – 0.90 (m, 10H, H-19, H-24, H-25, H-30), 0.86 (d,  $J$  = 6.1 Hz, 3H, H-29), 0.77 (d,  $J$  = 10.5 Hz, 1H, H-5), 0.66 (s, 3H, H-26).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  177.23 ( $\text{C}_q$ -28), 165.82 - 165.55 (3 x CO), 138.14 ( $\text{C}_q$ -13), 136.35 ( $\text{C}_q$ -2 *ph*), 133.38 – 127.92 (23 x *Carom*), 125.61 (C-12), 99.72 (C-1'), 89.98 (C-3), 71.97 (C-4'), 71.20 (C-2'), 70.17 (C-3'), 66.76 (C-5'), 65.95 (C-1 *ph*), 55.39 (C-5), 52.87 (C-18), 47.51 (C-9), 42.02 ( $\text{C}_q$ -14), 39.52 ( $\text{C}_q$ -8), 39.51 ( $\text{C}_q$ -4), 39.05 (C-20), 39.01 ( $\text{C}_q$ -17), 38.81 (C-19), 38.57 (C-2), 36.67 ( $\text{C}_q$ -10), 36.61 (C-1), 32.98 (C-7), 30.64 (C-21), 28.38 (C-23), 27.93 (C-15), 25.45 (C-22), 24.23 (C-11), 23.55 (C-27), 23.28 (C-16), 21.17 (C-

30), 18.27 (C-6), 17.56 (C-6'), 17.00 (C-29), 16.99 (C-26), 16.63 (C-24), 15.50 (C-25). The compound is not characterized in the literature.

### 3.5 General procedure for the deprotection

#### Procedure C:

**Synthesis of 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**) according to the general procedure C:**



3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**)

To a solution of (**39**) (80 mg, 580  $\mu$ mol) in MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2:1, 10 mL) under inert atmosphere (Ar) were added 0.5 N aqueous MeONa (360  $\mu$ L, 4  $\mu$ mol) and stirred for 12 h. Once TLC indicated completion, the reaction mixture was diluted with MeOH, acidified with Dowex resin G-26 (H<sup>+</sup>), filtrated and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 100% to 9:1) to yield (**47**) as a white solid (36.6 mg, 79%) :  $R_f$  = 0.25 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  -11.44 (c 0.36, MeOH)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  5.35 (d,  $J$  = 1.5 Hz, 1H, H-1'), 5.29 (d,  $J$  = 1.4 Hz, 1H, H-1''), 5.24 (s, 1H, H-12), 4.64 (dd,  $J$  = 3.4, 1.6 Hz, 1H, H-2''), 4.61 (dd,  $J$  = 3.4, 1.6 Hz, 1H, H-2'), 4.57 – 4.53 (m, 1H, H-3''), 4.50 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H, H-3'), 4.39 – 4.35 (m, 1H, H-4'), 4.35 – 4.33 (m, 1H, H-5'), 4.33 – 4.29 (m, 1H, H-4''), 4.29 – 4.22 (m, 1H, H-5''), 3.62 (s, 1H, H-28a), 3.43 (d,  $J$  = 9.2 Hz, 1H, H-28b), 3.20 (dd,  $J$  = 11.6, 4.4 Hz, 1H, H-3), 1.98 (d,  $J$  = 13.0

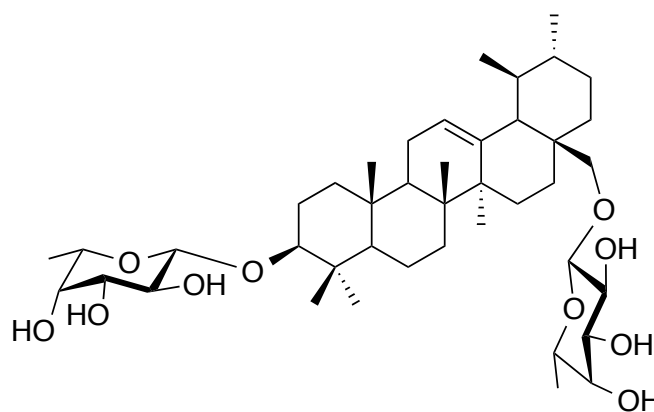
Hz, 1H, H-22a), 1.94 – 1.87 (m, 2H, H-11a, H-16a), 1.75 (d,  $J = 6.1$  Hz, 4H, H-6'', H-15a), 1.70 (d,  $J = 5.5$  Hz, 4H, H-6', H-1a), 1.67 – 1.38 (m, 7H, H-1b, H-2a, H-6a, H-7a, H-9, H-18, H-20), 1.38 – 1.21 (m, 6H, H-6b, H-7b, H-11b, H-16b, H-21), 1.19 (s, 3H, H-27), 0.99 – 0.93 (m, 11H, H-15b, H-22b, H-23, H-26, H-30), 0.93 – 0.88 (m, 7H, H-19, H-25, H-29), 0.85 (s, 4H, H-2a, H-24), 0.75 – 0.69 (m, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  139.14 ( $\text{C}_q$ -13), 125.57 (C-12), 104.50 (C-1'), 102.01 (C-1''), 88.41 (C-3), 74.71 (C-28), 74.15 (C-4'), 74.07 (C-4''), 73.12 (C-3''), 72.95 (C-3'), 72.53 (C-2''), 72.51 (C-2'), 69.91 (C-5'), 69.83 (C-5''), 55.53 (C-5), 54.71 (C-18), 47.97 (C-9), 42.19 ( $\text{C}_q$ -14), 40.24 ( $\text{C}_q$ -8), 39.66 (C-20), 39.56 (C-19), 39.23 ( $\text{C}_q$ -4), 38.87 (C-2), 37.72 ( $\text{C}_q$ -17), 36.74 ( $\text{C}_q$ -10), 36.34 (C-1), 33.07 (C-7), 31.07 (C-21), 28.26 (C-23), 26.48 (C-15), 25.92 (C-22), 24.02 (C-11), 23.67 (C-16), 23.56 (C-27), 21.54 (C-30), 19.25 (C-6), 18.82 (C-6'), 18.55 (C-6''), 17.65 (C-25), 17.01 (C-29), 16.78 (C-26), 15.86 (C-24).

HR-ESI-MS  $m/z$  757.4861  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{42}\text{H}_{70}\text{O}_{10}$  found 734.4969.

The compound is not characterized in the literature.

### Synthesis of 3,28-di-*O*- $\beta$ -L-fucopyranosyl uvaol (**48**) according to the general procedure

C:



3,28-di-*O*- $\beta$ -L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

Starting with a solution of (**40**) (80 mg, 580  $\mu\text{mol}$ ) and 0.5 N aqueous MeONa (360  $\mu\text{L}$ , 4  $\mu\text{mol}$ ). The residue was purified by flash chromatography on silica gel ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH 100%

to 9:1) to yield (**48**) as a white powder (36.6 mg, 86%) :  $R_f = 0.25$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} +17.61$  (c 0.37, MeOH)

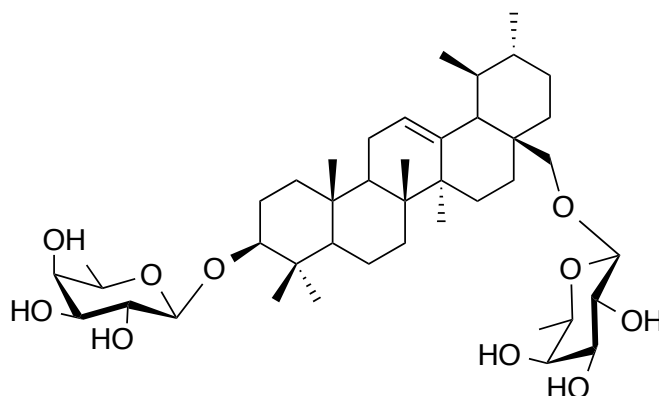
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  5.24 (s, 1H, H-12), 4.73 (d,  $J = 7.5$  Hz, 1H, H-1'), 4.66 (d,  $J = 7.6$  Hz, 1H, H-1''), 4.41 (s, 1H, H-2''), 4.35 (d,  $J = 5.0$  Hz, 1H, H-2'), 4.32 (s, 1H, H-28a), 4.16 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-4'), 4.14 (d,  $J = 3.1$  Hz, 1H, H-3''), 4.11 (s, 1H, H-4''), 4.10 (s, 1H, H-3'), 3.87 (d,  $J = 4.3$  Hz, 1H, H-5''), 3.86 (d,  $J = 4.0$  Hz, 1H, H-5'), 3.49 (dd,  $J = 11.7, 4.2$  Hz, 1H, H-3), 3.21 (d,  $J = 9.3$  Hz, 1H, H-28b), 2.21 (s, 1H, H-15a), 2.09 – 1.99 (m, 2H, H-2a, H-21a), 1.96 – 1.84 (m, 3H, H-11a, H-16), 1.80 – 1.67 (m, 2H, H-2b, H-22a), 1.62 (s, 3H, H-6'), 1.61 (s, 4H, H-6'', H-9), 1.56 – 1.30 (m, 9H, H-1, H-7, H-6, H-18, H-20, H-21b), 1.28 (s, 3H, H-23), 1.22 (s, 4H, H-11b, H-27), 1.17 (s, 3H, H-26), 1.02 (s, 1H, H-15b), 0.98 (s, 1H, H-22b), 0.94 (s, 6H, H-24, H-30), 0.92 (s, 7H, H-19, H-24, H-29), 0.85 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  139.65 (C-13), 125.15 (C-12), 105.51 (C-1''), 103.10 (C-1'), 85.26 (C-3), 77.43 (C-28), 75.62 (C-2'), 75.56 (C-4''), 72.89 (C-3'), 72.85 (C-3''), 72.40 (C-2'), 72.26 (C-2''), 71.47 (C-5''), 71.39 (C-5'), 56.26 (C-5), 54.95 (C-18), 48.08 (C-9), 42.34 (C<sub>q</sub>-14), 40.54 (C<sub>q</sub>-8), 39.72 (C-20), 39.51 (C-19), 38.90 (C-22), 38.55 (C<sub>q</sub>-4), 38.09 (C<sub>q</sub>-17), 36.98 (C<sub>q</sub>-10), 36.73 (C-21), 33.14 (C-7), 30.98 (C-6), 28.68 (C-23), 26.59 (C-15), 23.98 (C-11), 23.77 (C-16), 23.73 (C-27), 23.35 (C-1), 21.56 (C-30), 18.73 (C-2), 17.69 (C-25), 17.47 (C-6'), 17.39 (C-6''), 17.17 (C-29), 17.04 (C-26), 15.84 (C-24).

HR-ESI-MS  $m/z$  757.4866 [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>42</sub> H<sub>70</sub> O<sub>10</sub> found 734.4969.

The compound is not characterized in the literature.

## Synthesis of 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosyl uvaol (**49**) according to the general procedure

C:



3,28-di-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosyl uvaol (**49**)

Starting with a solution of (**41**) (60 mg, 40  $\mu$ mol) and 0.5 N aqueous MeONa (280  $\mu$ L, 4  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**49**) as a white powder (25.5 mg, 87%) :  $R_f$  = 0.25 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  +3.49 (c 0.37, MeOH)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  5.21 (s, 1H, H-12), 4.80 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H, H-1'), 4.73 (d,  $J$  = 7.6 Hz, 1H, H-1''), 4.42 (s, 1H, H-2''), 4.40 (s, 1H, H-2'), 4.17 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H, H-3''), 4.12 (s, 2H, H-4', H-4''), 4.10 (s, 1H, H-3'), 3.96 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 1H, H-5''), 3.92 - 3.87 (m, 1H, H-5'), 3.86 (s, 1H, H-28a), 3.81 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H, H-28b), 3.44 - 3.35 (m, 1H, H-3), 2.29 (d,  $J$  = 14.2 Hz, 1H, H-2a), 2.00 (d,  $J$  = 11.8 Hz, 1H, H-21a), 1.97 - 1.85 (m, 3H, H-2b, H-11a, H-16a), 1.64 (s, 2H, H-21b, H-22a), 1.64 - 1.46 (m, 14H, H-6'', H-6', H-6, H-7, H-9, H-16b, H-18, H-20), 1.36 (s, 3H, H-23), 1.34 - 1.24 (m, 3H, H-1, H-15a), 1.22 (s, 4H, H-11b, H-27), 1.10 (s, 3H, H-26), 1.05 (s, 1H, H-15b), 1.01 (s, 3H, H-24), 0.96 (s, 1H, H-22b), 0.94 (s, 9H, H-25, H-29, H-30), 0.85 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  139.33 (C-13), 125.33 (C-12), 107.37 (C-1'), 105.92 (C-1''), 88.66 (C-3), 77.23 (C-28), 75.52 (C-3''), 72.90 (C-3'), 72.84 (C-4'), 72.84 (C-4''), 72.82 (C-2'), 72.38 (C-2''), 71.49 (C-5''), 71.23 (C-5'), 55.91 (C-5), 54.90 (C-18), 48.10 (C-9), 42.27 (C<sub>q</sub>-14), 40.41 (C<sub>q</sub>-8), 39.67 (C-20), 39.61 (C<sub>q</sub>-4), 39.56 (C-19), 39.14 (C-22), 38.14 (C<sub>q</sub>-17), 36.82 (C<sub>q</sub>-10), 36.77 (C-21), 33.08 (C-7), 31.02 (C-6), 28.28 (C-23), 26.77 (C-15), 26.72 (C-16), 23.67 (C-27), 23.67 (C-11), 23.39 (C-1), 21.56 (C-30), 18.49 (C-2), 17.70 (C-29), 17.54 (C-6'), 17.44 (C-6''), 17.09 (C-26), 17.04 (C-



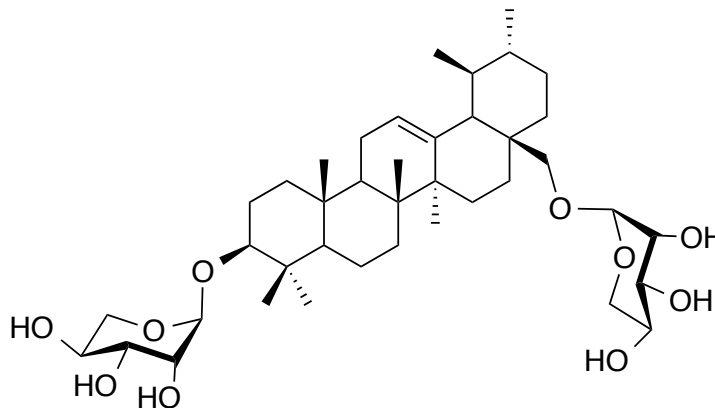
24), 15.96 (C-25).

HR-ESI-MS  $m/z$  757.4867  $[M+Na]^+$  calcd for  $C_{42}H_{70}O_{10}$  found 734.4969.

The compound is not characterized in the literature.

### Synthesis of 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl uvaol (**50**) according to the general procedure

C:



3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl uvaol (**50**)

Starting with a solution of (**42**) (90 mg, 70  $\mu$ mol) and 0.5 N aqueous MeONa (440  $\mu$ L, 7  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel ( $CHCl_3$ :MeOH, 10 to 9:1) to yield (**50**) as a white powder (42.1 mg, 85%) :  $R_f$  = 0.24 ( $CHCl_3$ :MeOH, 7:3);  $[\alpha]_D^{20}$  - 21.80 (c 0.10, MeOH)

$^1H$  NMR (400 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  5.45 (s, 1H, H-1'), 5.26 (s, 1H, H-1''), 5.18 (s, 1H, H-12), 4.71 (s, 1H, H-4''), 4.69 (s, 1H, H-4'), 4.59 (s, 1H, H-2''), 4.55 (s, 1H, H-3'), 4.53 (s, 1H, H-3''), 4.51 (s, 1H, H-2'), 4.30 (d,  $J$  = 4.5 Hz, 1H, H-5'a), 4.29 - 4.25 (m, 1H, H-5'b), 4.20 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H, H-5''a), 4.16 - 4.10 (m, 1H, H-5''b), 4.06 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H, H-28a), 3.41 (dd,  $J$  = 11.3, 4.3 Hz, 1H, H-3), 3.05 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1H, H-28b), 1.97 - 1.88 (m, 1H, H-15a), 1.83 (s, 1H, H-11a), 1.81 (s, 1H, H-16a), 1.78 (s, 1H, H-21a), 1.54 - 1.52 (m, 3H, H-2a, H-7a, H-9), 1.52 - 1.46 (m, 6H, H-6, H-18, H-19, H-21b, H-22a), 1.44 - 1.36 (m, 3H, H-1, H-16b), 1.35 - 1.23 (m, 3H, H-2b, H-7b, H-11b), 1.19 (s, 3H, H-27), 1.17 (s, 3H, H-23), 1.06 (s, 3H, H-26), 1.00 (s, 1H, H-15b), 0.95 (d,  $J$  = 6.4 Hz, 3H, H-30), 0.88 - 0.87 (m, 10H, H-20, H-24, H-25,

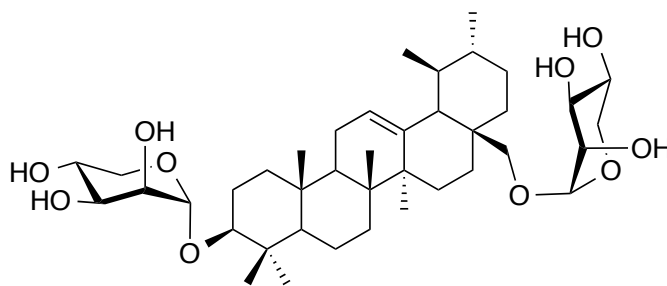
H-29), 0.83 (s, 1H, H-22b), 0.78 (s, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  139.27 ( $\text{C}_q$ -13), 125.26 (C-12), 102.99 (C-1''), 98.58 (C-1'), 82.44 (C-3), 75.89 (C-28), 73.57 (C-3'), 73.48 (C-3''), 72.28 (C-2'), 71.90 (C-2''), 68.74 (C-4''), 68.55 (C-4'), 65.45 (C-5''), 64.86 (C-5'), 55.85 (C-5), 54.91 (C-18), 47.99 (C-9), 42.32 ( $\text{C}_q$ -14), 40.38 ( $\text{C}_q$ -8), 39.73 (C-20), 39.52 (C-19), 38.59 ( $\text{C}_q$ -4), 38.56 (C-21), 37.87 ( $\text{C}_q$ -17), 36.96 ( $\text{C}_q$ -10), 33.19 (C-7), 31.02 (C-6), 28.84 (C-23), 26.51 (C-15), 25.64 (C-22), 23.77 (C-11), 23.68 (C-16), 23.65 (C-1), 23.54 (C-27), 21.51 (C-30), 18.60 (C-2), 17.64 (C-29), 17.10 (C-25), 16.98 (C-26), 15.83 (C-24).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4544  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_{10}$  found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.

### Synthesis of 3,28-di-*O*- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl uvaol (**51**) according to the general procedure

C:



3,28-di-*O*- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl uvaol (**51**)

Starting with a solution of (**43**) (80 mg, 60  $\mu\text{mol}$ ) and 0.5 N aqueous MeONa (400  $\mu\text{L}$ , 6  $\mu\text{mol}$ ). The residue was purified by flash chromatography on silica gel ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH, 10 to 9:1) to yield (**51**) as a white powder (36.4 mg, 86%) :  $R_f$  = 0.28 ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  +272.41 (c 0.87, MeOH)

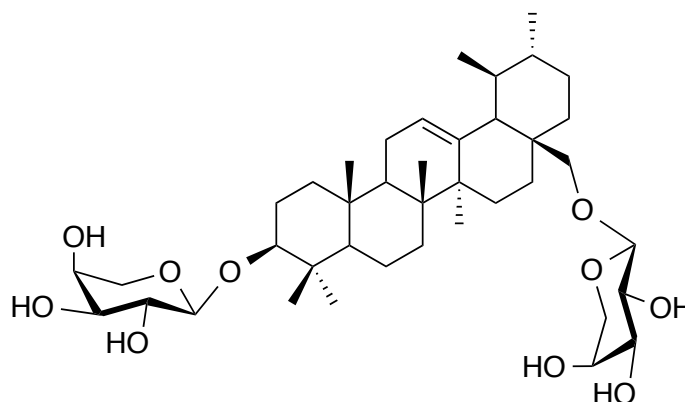
$^1\text{H}$  NMR (400 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  5.45 (d,  $J$  = 3.5 Hz, 1H, H-1'), 5.27 (d,  $J$  = 2.3 Hz, 1H, H-1''), 5.18 (d,  $J$  = 3.3 Hz, 1H, H-12), 4.75 - 4.71 (m, 1H, H-4''), 4.70 (s, 1H, H-4'), 4.60 (s, 1H, H-2''), 4.55 (s, 1H, H-3'), 4.53 (s, 1H, H-3''), 4.51 (s, 1H, H-2'), 4.30 (d,  $J$  = 4.5 Hz, 1H, H-5'a), 4.29 - 4.24 (m, 1H, H-5'b), 4.20 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H, H-5'a), 4.16 - 4.11 (m, 1H, H-5'b), 4.06 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H, H-28a), 3.41 (dd,  $J$  = 11.3, 4.3 Hz, 1H, H-3), 3.05 (d,  $J$  = 9.5 Hz, 1H, H-28b), 1.97 - 1.88 (m, 1H, H-15a), 1.83 (s, 1H, H-11a), 1.81 (s, 1H, H-16a), 1.78 (s, 1H, H-

21a), 1.52 (m, 3H, H-2a, H-7a, H-9), 1.51 - 1.44 (m, 6H, H-6, H-18, H-19, H-21b, H-22a), 1.44 - 1.23 (m, 6H, H-1, H-2b, H-7b, H-11b, H-16b), 1.19 (s, 3H, H-27), 1.17 (s, 3H, H-23), 1.06 (s, 3H, H-26), 1.00 (s, 1H, H-15b), 0.95 (d,  $J = 6.4$  Hz, 3H, H-30), 0.88 - 0.87 (m, 9H, H-24, H-25, H-29), 0.94 (s, 1H, H-20), 0.82 (s, 1H, H-22b), 0.78 (s, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  139.27 ( $\text{C}_\text{q}$ -13), 125.26 (C-12), 102.99 (C-1''), 98.58 (C-1'), 82.44 (C-3), 75.89 (C-28), 73.57 (C-3'), 73.47 (C-3''), 72.28 (C-2'), 71.90 (C-2''), 68.74 (C-4''), 68.55 (C-4'), 65.45 (C-5''), 64.86 (C-5'), 55.85 (C-5), 54.90 (C-18), 47.99 (C-9), 42.32 ( $\text{C}_\text{q}$ -14), 40.38 ( $\text{C}_\text{q}$ -8), 39.73 (C-20), 39.52 (C-19), 38.59 ( $\text{C}_\text{q}$ -4), 38.56 (C-21), 37.87 ( $\text{C}_\text{q}$ -17), 36.96 ( $\text{C}_\text{q}$ -10), 36.37 (C-22), 33.19 (C-7), 31.02 (C-6), 28.83 (C-23), 26.51 (C-15), 23.77 (C-11), 23.68 (C-16), 23.65 (C-1), 23.53 (C-27), 21.51 (C-30), 18.60 (C-2), 17.64 (C-29), 17.10 (C-25), 16.98 (C-26), 15.83 (C-24).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4541  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_{10}$  found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (**52**) according to the general procedure C:**



3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (**52**)

Starting with a solution of (**44**) (65 mg, 48  $\mu\text{mol}$ ) and 0.5 N aqueous MeONa (290  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{mol}$ ). The residue was purified by flash chromatography on silica gel ( $\text{CHCl}_3$ :MeOH, 10 to

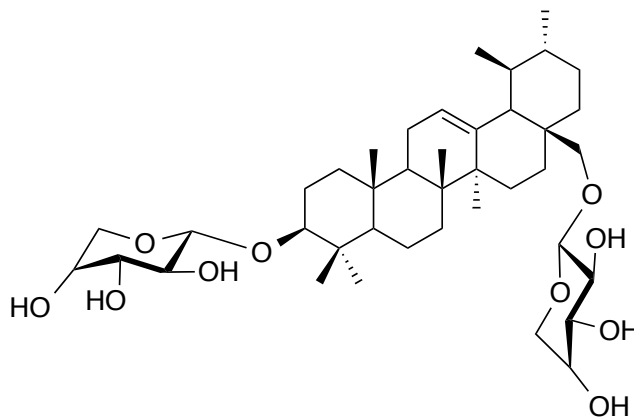
9:1) to yield (**52**) as a white powder (29.2 mg, 86%) :  $R_f = 0.25$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} +15.36$  (c 0.28, MeOH)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  5.20 (s, 1H, H-12), 4.80 (d,  $J = 7.2$  Hz, 1H, H-1'), 4.77 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-1''), 4.50 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, H-2''), 4.46 (d,  $J = 8.3$  Hz, 1H, H-2'), 4.43 – 4.40 (m, 2H, H-4'', H-5''a), 4.35 – 4.33 (m, 2H, H-4', H-5'a), 4.31 – 4.25 (m, 1H, H-3''), 4.22 – 4.16 (m, 1H, H-3'), 3.91 (d,  $J = 11.6$  Hz, 1H, H-5''b), 3.86 (d,  $J = 12.1$  Hz, 1H, H-5'b), 3.81 (s, 1H, H-28a), 3.73 (d,  $J = 9.6$  Hz, 1H, H-28b), 3.42 – 3.36 (m, 1H, H-3), 2.24 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H, H-15a), 2.13 – 2.01 (m, 1H, H-16a), 2.01 – 1.84 (m, 6H, H-1a, H-2a, H-11a, H-16b, H-22), 1.69 – 1.46 (m, 7H, H-1b, H-2b, H-6a, H-7a, H-9, H-18, H-20), 1.45 – 1.36 (m, 2H, H-6b, H-21a), 1.32 (s, 4H, H-7b, H-23), 1.30 – 1.23 (m, 1H, H-21b), 1.20 (s, 4H, H-11b, H-27), 1.04 (s, 4H, H-15b, H-26), 1.00 (s, 3H, H-24), 0.96 – 0.87 (m, 10H, H-19, H-25, H-29, H-30), 0.83 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  139.26 (C<sub>q</sub>-13), 125.36 (C-12), 107.64 (C-1'), 105.65 (C-1''), 88.72 (C-3), 77.10 (C-28), 74.69 (C-3'), 74.52 (C-3''), 72.99 (C-2'), 72.49 (C-2''), 69.62 (C-4'), 69.15 (C-4''), 66.86 (C-5'), 66.37 (C-5''), 55.83 (C-5), 54.95 (C-18), 48.05 (C-9), 42.25 (C<sub>q</sub>-14), 40.35 (C<sub>q</sub>-8), 39.70 (C<sub>q</sub>-4), 39.67 (C-20), 39.59 (C<sub>q</sub>-17), 39.54 (C-19), 39.05 (C-2), 38.06 (C<sub>q</sub>-10), 36.81 (C-1), 33.04 (C-7), 31.00 (C-21), 28.25 (C-23), 26.78 (C-16), 26.74 (C-15), 26.70 (C-22), 23.64 (C-27), 23.38 (C-11), 21.54 (C-29), 18.47 (C-6), 17.67 (C-25), 17.02 (C-24), 16.99 (C-26), 15.95 (C-30).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4550 [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>40</sub> H<sub>66</sub> O<sub>10</sub> found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.

**Synthesis of 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-arabinopyranosyl uvaol (**53**) according to the general procedure C:**



3,28-di-*O*- $\beta$ -D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)

Starting with a solution of (**45**) (60 mg, 40  $\mu$ mol) and 0.5 N aqueous MeONa (280  $\mu$ L, 4  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**53**) as a white powder (25.5 mg, 87%) :  $R_f$  = 0.25 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  +8.97 (c 0.43, MeOH)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  5.23 (s, 1H, H-12), 4.75 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-1'), 4.70 (d,  $J$  = 6.8 Hz, 1H, H-1''), 4.51 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H, H-2''), 4.45 (d,  $J$  = 7.7 Hz, 1H, H-2'), 4.42 – 4.34 (m, 4H, H-4', H-4'', H-5'a, H-5''a), 4.28 (s, 1H, H-28a), 4.25 – 4.17 (m, 2H, H-3', H-3''), 3.86 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-5''b), 3.84 (d,  $J$  = 8.9 Hz, 1H, H-5'b), 3.51 – 3.43 (m, 1H, H-3), 3.21 (d,  $J$  = 9.4 Hz, 1H, H-28b), 2.12 (d,  $J$  = 12.9 Hz, 1H, H-15a), 2.05 – 1.97 (m, 2H, H-2a, H-16a), 1.92 (s, 1H, H-22a), 1.88 (d,  $J$  = 7.2 Hz, 1H, H-11a), 1.70 (d,  $J$  = 12.8 Hz, 1H, H-2b), 1.61 – 1.55 (m, 2H, H, 1a, H-9), 1.54 (s, 2H, H-7a, H-16b), 1.53 – 1.45 (m, 5H, H-6, H-18, H-20, H-21a), 1.39 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H, H-21b), 1.32 (s, 1H, H-7b), 1.27 (s, 4H, H-22b, H-23), 1.21 (s, 4H, H-11b, H-27), 1.10 (s, 3H, H-26), 1.02 (s, 1H, H-15b), 0.95 – 0.86 (m, 13H, H-19, H-24, H-25, H-29, H-30), 0.85 (s, 1H, H-1b), 0.81 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>)  $\delta$  139.53 (C<sub>q</sub>-13), 125.20 (C-12), 105.67 (C-1''), 103.02 (C-1'), 84.94 (C-3), 77.34 (C-28), 74.82 (C-3'), 74.63 (C-3''), 72.57 (C-2'), 72.56 (C-2''), 69.64 (C-4'), 69.35 (C-4''), 67.09 (C-5'), 66.61 (C-5''), 56.17 (C-5), 54.83 (C-18), 48.05 (C-9), 42.33 (C<sub>q</sub>-14), 40.46

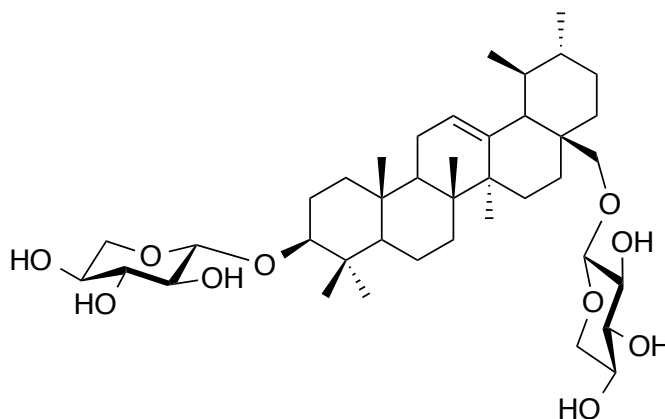
(C<sub>q</sub>-8), 39.70 (C-20), 39.50 (C-19), 38.84 (C-1), 38.54 (C<sub>q</sub>-4), 38.08 (C<sub>q</sub>-17), 36.97 (C<sub>q</sub>-10), 36.63 (C-2), 33.10 (C-7), 30.98 (C-21), 28.71 (C-23), 26.54 (C-15), 23.74 (C-16), 23.69 (C-22), 23.66 (C-23), 23.51 (C-11), 21.54 (C-29), 18.68 (C-6), 17.69 (C-24), 17.14 (C-25), 16.88 (C-26), 15.82 (C-30).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4577 [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>40</sub> H<sub>66</sub> O<sub>10</sub> found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.

### Synthesis of 3,28-di-*O*-β-L-xylopyranosyl uvaol (**54**) according to the general procedures

**B and C:**



3,28-di-*O*-β-L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

According to the general procedure **B**, starting with a solution of acceptor of (**8**) (60 mg, 135 μmol), donor (**33**) (180 mg, 298 μmol) and TMSOTf (2.5 μL, 13 μmol). The residue was treated according to the general procedure **C** with 0.5 N aqueous MeONa (860 μL, 13 μmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**54**) as a white powder (55.3 mg, 58%, 2 steps) :  $R_f$  = 0.51 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  +47.14 (c 0.12, MeOH)

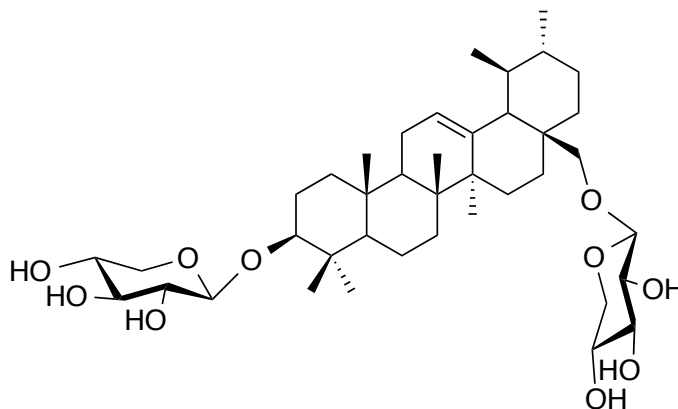
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ 5.25 (s, 1H, H-12), 4.83 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-1'), 4.76 (d,  $J$  = 7.5 Hz, 1H, H-1''), 4.47 (d,  $J$  = 5.3 Hz, 1H, H-5''a), 4.43 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-5'a), 4.29 (s, 2H, H-4', H-28a), 4.27 (s, 1H, H-4''), 4.25 (s, 1H, H-3'), 4.21 (s, 1H, H-3''), 4.12 – 4.06 (m, 1H, H-2''), 4.05 - 4.03 (m, 1H, H-2'), 3.84 - 3.79 (m, 1H, H-5'b), 3.78 - 3.75 (m, 1H, H-

5''b), 3.52 - 3.45 (m, 1H, H-3), 3.25 (d,  $J = 9.4$  Hz, 1H, H-28b), 2.24 - 2.12 (m, 1H, H-15a), 2.04 (d,  $J = 13.3$  Hz, 1H, H-2a), 1.98 (d,  $J = 13.0$  Hz, 1H, H-16a), 1.89 (d,  $J = 6.6$  Hz, 1H, H-11a), 1.77 - 1.68 (m, 1H, H-22a), 1.64 - 1.33 (m, 11H, H-1a, H-2b, H-6, H-7a, H-9, H-16, H-20, H-21a, H-18, H-21b), 1.32 (s, 1H, H-7b), 1.28 (s, 3H, H-23), 1.21 (s, 5H, H-11b, H-22b, H-27), 1.13 (s, 3H, H-26), 1.01 (d,  $J = 14.9$  Hz, 1H, H-15b), 0.94 (s, 1H, H-19), 0.93 (s, 3H, H-24), 0.92 (s, 6H, H-25, H-29), 0.89 (s, 4H, H-1b, H-30), 0.82 (s, 1H, H-5).  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, pyridine- $d_5$ )  $\delta$  139.56 (C-13), 125.25 (C-12), 105.82 (C-1''), 103.10 (C-1'), 84.86 (C-3), 78.66 (C-3'), 78.56 (C-3''), 77.29 (C-28), 75.12 (C-2''), 75.06 (C-2'), 71.29 (C-4'), 71.16 (C-4''), 67.35 (C-5'), 67.26 (C-5''), 56.15 (C-5), 54.78 (C-18), 48.05 (C-9), 42.32 (C<sub>q</sub>-14), 40.49 (C<sub>q</sub>-8), 39.71 (C-20), 39.52 (C-19), 38.84 (C-1), 38.50 (C<sub>q</sub>-4), 38.13 (C<sub>q</sub>-17), 36.97 (C<sub>q</sub>-10), 36.68 (C-2), 33.12 (C-7), 30.98 (C-21), 28.62 (C-23), 26.49 (C-15), 23.75 (C-16), 23.72 (C-22), 23.67 (C-27), 23.50 (C-11), 21.55 (C-29), 18.68 (C-6), 17.70 (C-24), 17.16 (C-25), 16.83 (C-26), 15.82 (C-30).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4565  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  calcd for  $\text{C}_{40}\text{H}_{66}\text{O}_{10}$  found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.

### Synthesis of 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl uvaol (**55**) according to the general procedure **B** and **C**:



3,28-di-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl uvaol (**55**)

According to the general procedure **B**, starting with a solution of acceptor of (**8**) (50 mg, 113

μmol), donor (**34**) (151 mg, 248 μmol) and TMSOTf (2 μL, 11 μmol). The residue was treated according to the general procedure C with 0.5 N aqueous MeONa (700 μL, 11 μmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**55**) as a white powder (42.1 mg, 54%, 2 steps) :  $R_f$  = 0.51 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:3);  $[\alpha]_D^{20}$  +3.19 (c 0.94, MeOH)

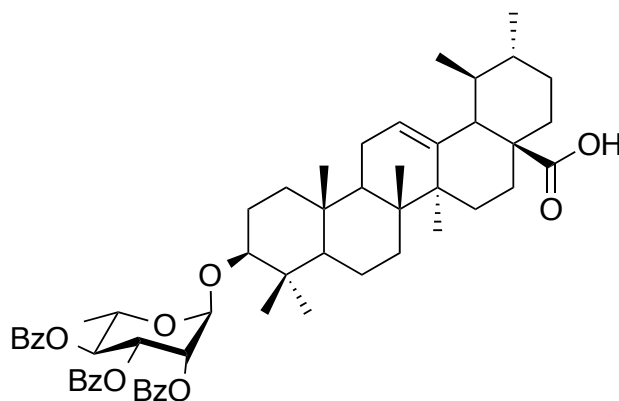
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ 5.21 (s, 1H, H-12), 4.88 (d,  $J$  = 7.3 Hz, 1H, H-1'), 4.80 (d,  $J$  = 7.1 Hz, 1H, H-1''), 4.46 (d,  $J$  = 11.9 Hz, 1H, H-5''a), 4.41 (d,  $J$  = 4.7 Hz, 1H, H-5'a), 4.28 (s, 1H, H-4''), 4.26 (s, 1H, H-4'), 4.23 (s, 1H, H-3''), 4.18 (s, 1H, H-3'), 4.09 (s, 1H, H-2''), 4.06 (s, 1H, H-2'), 3.84 (m, 2H, H-5''b, H-28a), 3.81 (s, 1H, H-5'b), 3.75 (d,  $J$  = 9.3 Hz, 1H, H-28b), 3.39 (s, 1H, H-3), 2.22 (d,  $J$  = 12.1 Hz, 1H, H-2a), 2.16 - 2.05 (m, 1H, H-15a), 2.01 (s, 1H, H-16a), 1.97 - 1.93 (m, 1H, H-2b), 1.89 (s, 1H, H-11a) 1.70 - 1.55 (m, 4H, H-1a, H-7a, H-9, H-16b), 1.55 - 1.42 (m, 6H, H-6, H-18, H-20, H-21), 1.35 (s, 5H, H-22, H-23), 1.27 (s, 1H, H-7b), 1.21 (s, 4H, H-11b, H-27), 1.05 (s, 7H, H-15b, H-24, H-26), 0.97 (s, 1H, H-1b), 0.92 (s, 7H, H-19, H-25, H-30), 0.89 (s, 3H, H-29), 0.84 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, pyridine-*d*<sub>5</sub>) δ 139.29 (C-13), 125.35 (C-12), 107.75 (C-1'), 106.09 (C-1''), 88.72 (C-3), 78.68 (C-3''), 78.48 (C-3'), 77.15 (C-28), 75.60 (C-2'), 75.02 (C-2''), 71.28 (C-4'), 71.27 (C-4''), 67.25 (C-5''), 67.18 (C-5'), 55.85 (C-5), 54.91 (C-18), 48.07 (C-9), 42.26 (C<sub>q</sub>-14), 40.39 (C<sub>q</sub>-8), 39.67 (C-20), 39.62 (C<sub>q</sub>-4), 39.55 (C-19), 39.06 (C-1), 38.12 (C<sub>q</sub>-17), 36.83 (C<sub>q</sub>-10), 36.71 (C-16), 33.06 (C-7), 31.01 (C-21), 28.23 (C-23), 26.82 (C-2), 26.73 (C-15), 23.66 (C-27), 23.47 (C-22), 23.43 (C-11), 21.53 (C-30), 18.47 (C-6), 17.68 (C-29), 17.02 (C-24), 17.02 (C-26), 15.94 (C-25).

HR-ESI-MS  $m/z$  729.4534 [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>40</sub> H<sub>66</sub> O<sub>10</sub> found 706.4656.

The compound is not characterized in the literature.



**Synthesis of 3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) ursolic acid (**56**):**



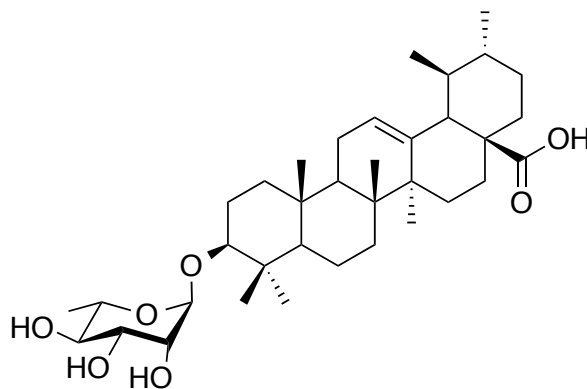
3-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) ursolic acid (**56**)

A solution of (**46**) (40 mg, 39.2  $\mu$ mol) in 15 ml of a MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50:50) mixture was subjected to hydrogenation under catalysis of 6 mg of 5% Pd/C overnight at normal pressure. After completion of the reaction monitored by TLC, the mixture was filtered on Celite<sup>®</sup> and evaporated under reduce pressure. The residue was purified by flash chromatography on silica gel (hexanes:ethyl acetate, 9:1) to yield (**56**) as a white powder (35 mg, 95%) :  $R_f$  = 0.40 (hexanes:ethyl acetate 8:2);  $[\alpha]_D^{20} +32.57$  (c 0.24, CHCl<sub>3</sub>)

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.13 - 7.23 (m, 15H, H-*arom*), 5.85 (dd,  $J$  = 10.2, 3.3 Hz, 1H, H-3'), 5.71 (d,  $J$  = 9.9 Hz, 1H, H-4'), 5.66 (d,  $J$  = 2.8 Hz, 1H, H-2'), 5.26 (s, 1H, H-12), 5.10 (d,  $J$  = 1.7 Hz, 1H, H-1'), 4.34 (dd,  $J$  = 9.9, 6.1 Hz, 1H, H-5'), 3.25 (t,  $J$  = 8.1 Hz, 1H, H-3), 2.21 (d,  $J$  = 11.2 Hz, 1H, H-18), 2.05 – 1.79 (m, 6H, H-11, H-15, H-22), 1.76 – 1.46 (m, 10H, H-1, H-2a, H-6, H-7a, H-9, H-16a, H-20, H-21a), 1.44 – 1.29 (m, 4H, H-6', H-7b), 1.29 – 1.24 (m, 2H, H-2b, H-21b), 1.13 – 1.06 (m, 8H, H-16b, H-19, H-23, H-27), 1.01 (s, 3H, H-25), 0.98 – 0.95 (m, 6H, H-24, H-30), 0.87 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 3H, H-29), 0.80 (s, 3H, H-26), 0.78 (s, 1H, H-5). <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  183.61 (C<sub>q</sub>-28), 165.88 - 165.53 (3 x CO), 138.03 (C<sub>q</sub>-13), 133.40 - 128.24 (18 x C-*arom*), 125.68 (C-12), 99.80 (C-1'), 90.14 (C-3), 71.97 (C-3'), 71.22 (C-2'), 70.20 (C-4'), 66.78 (C-5'), 55.44 (C-5), 52.56 (C-18), 47.94 (C<sub>q</sub>-17), 47.55 (C-9), 41.95 (C<sub>q</sub>-14), 39.51 (C<sub>q</sub>-8), 39.05 (C-20), 39.02 (C<sub>q</sub>-4), 38.83 (C-19), 38.61 (C-2), 36.74 (C-1), 36.64 (C<sub>q</sub>-10), 32.92 (C-7), 30.62 (C-21), 28.38 (C-23), 27.98 (C-15), 25.47 (C-22), 24.09

(C-16), 23.63 (C-27), 23.32 (C-11), 21.20 (C-30), 18.26 (C-6), 17.56 (C-6'), 17.02 (C-29), 16.99 (C-26), 16.62 (C-24), 15.53 (C-25).

**Synthesis of 3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (**57**) according to the general procedure C:**



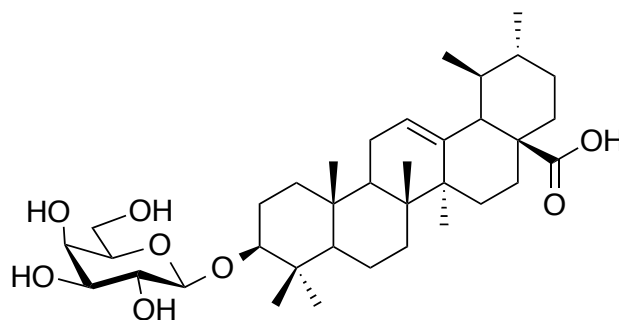
3-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl ursolic acid (**57**)

Starting with a solution of (**56**) (20 mg, 21  $\mu$ mol) and 0.5 N aqueous MeONa (140  $\mu$ L, 2  $\mu$ mol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**57**) as a white powder (25.5 mg, 87%) :  $R_f$  = 0.5 (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20}$  +5.79 (c 0.74, MeOH)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data of **57** were in agreement with those published in the literature (Bing *et al.*, 2008).

HR-ESI-MS  $m/z$  625.4121 [M+Na]<sup>+</sup> calcd for C<sub>36</sub> H<sub>58</sub> O<sub>7</sub> found 602.4183.

**Synthesis of 3-*O*-β-D-galactopyranosyl ursolic acid (**58**) according to the general procedure B and C:**



3-*O*-β-D-galactopyranosyl ursolic acid (**58**)

According to the general procedure **B**, starting with a solution of acceptor of (**37**) (80 mg, 142 μmol), of donor (**36**) (126.6 mg, 171 μmol) and TMSOTf (2.1 μL, 14.2 μmol). The residue was dissolved in 15 ml of a MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50:50 mixture and subjected to hydrogenation under catalysis of 10 mg of 5% Pd/C overnight at normal pressure. The residue was treated according to the general procedure **C** with 0.5 N aqueous MeONa (900 μL, 14 μmol). The residue was purified by flash chromatography on silica gel (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 10 to 9:1) to yield (**58**) as a white powder (43.1 mg, 48%, 3 steps) :  $R_f = 0.37$  (CHCl<sub>3</sub>:MeOH, 7:1);  $[\alpha]_D^{20} +13.8$  (c 0.8, MeOH)

<sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data of (**58**) were in agreement with those published in the literature (Guang *et al.*, 2010).

HR-ESI-MS  $m/z$  636.4459 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup> calcd for C<sub>36</sub> H<sub>58</sub> O<sub>7</sub> found 618.4132.

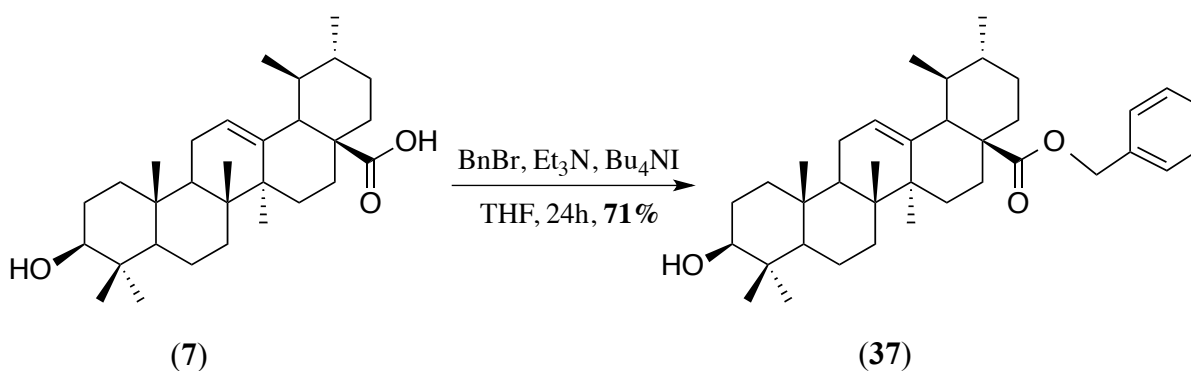
## **Chapitre 4**

### **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

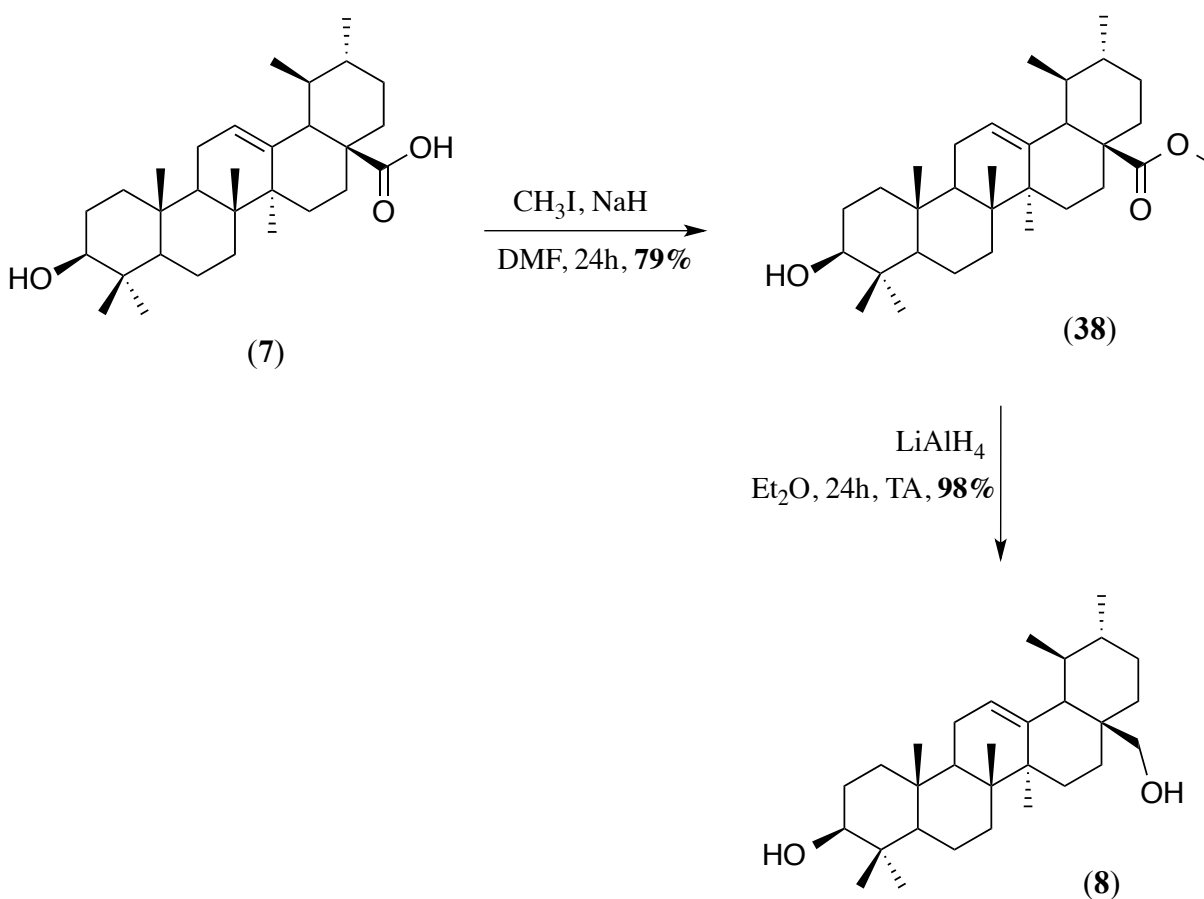
#### 4.1 Synthèse des dérivés glycosylés de l'acide ursolique et de l'uvaol

Ce projet de maîtrise visait à évaluer l'impact de la glycosylation de l'acide ursolique (**7**) et de l'uvaol (**8**) sur l'activité cytotoxique obtenue sur des lignées de cellules cancéreuses. Tel qu'énoncé dans l'introduction, ce travail était préalablement basé sur des études antérieures ayant démontrées le bienfondé du greffage de certaines sections sucres sur plusieurs propriétés biopharmaceutiques (cytotoxicité, sélectivité cellulaire, hydrosolubilité, etc.). En effet, ces travaux suggèrent entres autres que le greffage du L-rhamnose améliore la cytotoxicité et la sélectivité de composés de type lupane (Gauthier *et al.*, 2006).

La méthode utilisée pour réaliser les diverses glycosylations tentées consiste à faire réagir un accepteur et un donneur de glycoside en présence d'un acide de Lewis. Dans le cas qui nous intéresse, l'accepteur de glycoside est l'uvaol ou l'acide ursolique, adéquatement protégé, et le donneur de glycoside est un imidate de Schmidt, soit un sucre protégé et activé par une fonction trichloroacétimide. La figure 11 présente la préparation de l'acide ursolique afin de greffer le sucre en position 3. La figure 12 montre la synthèse de l'uvaol à partir de l'acide ursolique comme précurseur.



**Figure 11.** Préparation de l'acide ursolique



**Figure 12.** Synthèse de l'uvaol (8)

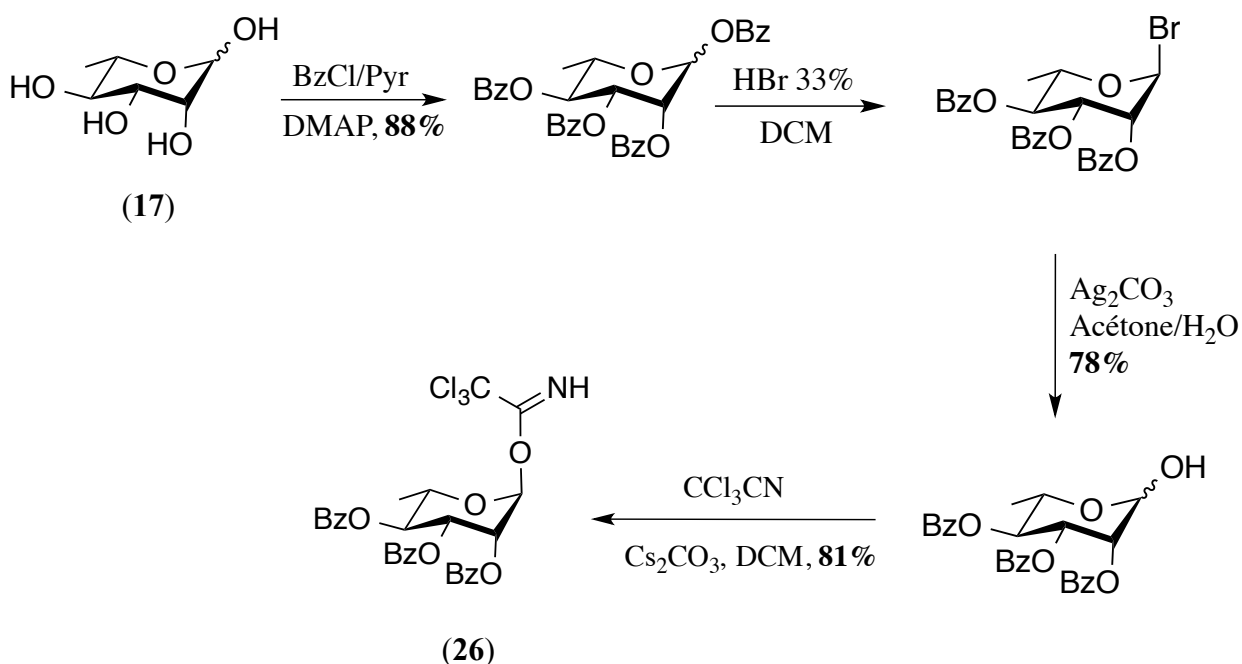
#### 4.1.1 Préparation des sucres activés par greffage d'un groupement trichloroacétimide

La synthèse des sucres trichloroacétimides est réalisée à partir de monosaccharides simple. Comme le montre la figure 13, la synthèse utilisée pour le L-rhamnose (17) est applicable à tous les autres types de sucres.

La première étape permet de perbenzoyler les positions hydroxyyles du L-rhamnose (17) en présence de chlorure de benzoyle, de pyridine et de DMAP. La seconde étape a pour but de substituer la position anomérique du sucre par un atome de brome à l'aide d'une solution

d'acide bromhydrique dans l'acide acétique et du dichlorométhane. La troisième étape est une réaction de Koenigs-Knorr en présence de carbonate d'argent et d'eau pour former l'hydroxyle anomérique libre. La formation de l'hémiacétal est suivie de l'activation de la position anomérique en présence de trichloroacétonitrile et de carbonate de césium afin d'obtenir le L-rhamnose trichloroacétimide (**26**), comme le montre la figure 13.

Au total, neuf autres monosaccharides ont été activés avec des groupements trichloroacétimides via la méthode de Schmidt (Schmidt *et al.*, 1980). Comme le mentionne le Tableau 4, les rendements obtenus sont généralement bons, soient entre 41 et 55 % pour les quatre étapes. Par contre, un rendement faible de 21 % a été observé avec le D-xylose. Étant donné que cette séquence a été effectuée à une seule occasion, il est difficile d'expliquer ce faible rendement. La qualité des réactifs impliqués peut être mise en cause, mais cette hypothèse n'a pas été vérifiée.



**Figure 13.** Formation du L-rhamnose trichloroacétimide (**26**)

**Tableau 4.** Rendements globaux observés pour la préparation des sucres trichloroacétimides

Composés	Sucres	Rendement (%)
		Activation TCA
<b>26</b>	L-rhamnose	55
<b>27</b>	D-fucose	54
<b>28</b>	L-fucose	53
<b>29</b>	D-lyxose	41
<b>30</b>	L-lyxose	47
<b>31</b>	D-arabinose	52
<b>32</b>	L-arabinose	50
<b>33</b>	L-xylose	47
<b>34</b>	D-xylose	21
<b>35</b>	D-mannose	51
<b>36</b>	D-galactose	50

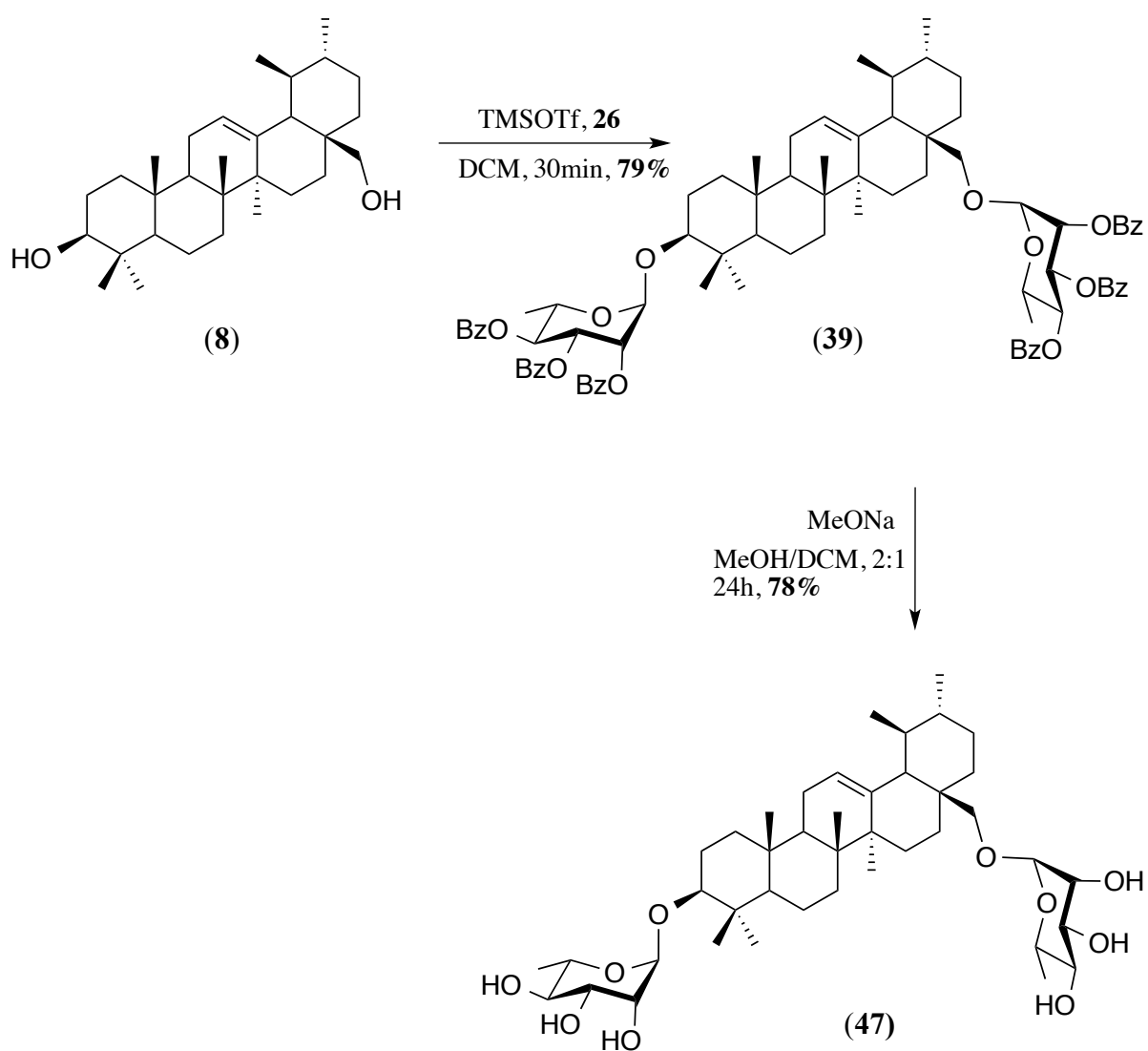


#### 4.1.2 Glycosylation de l'acide ursolique et de l'uvaol

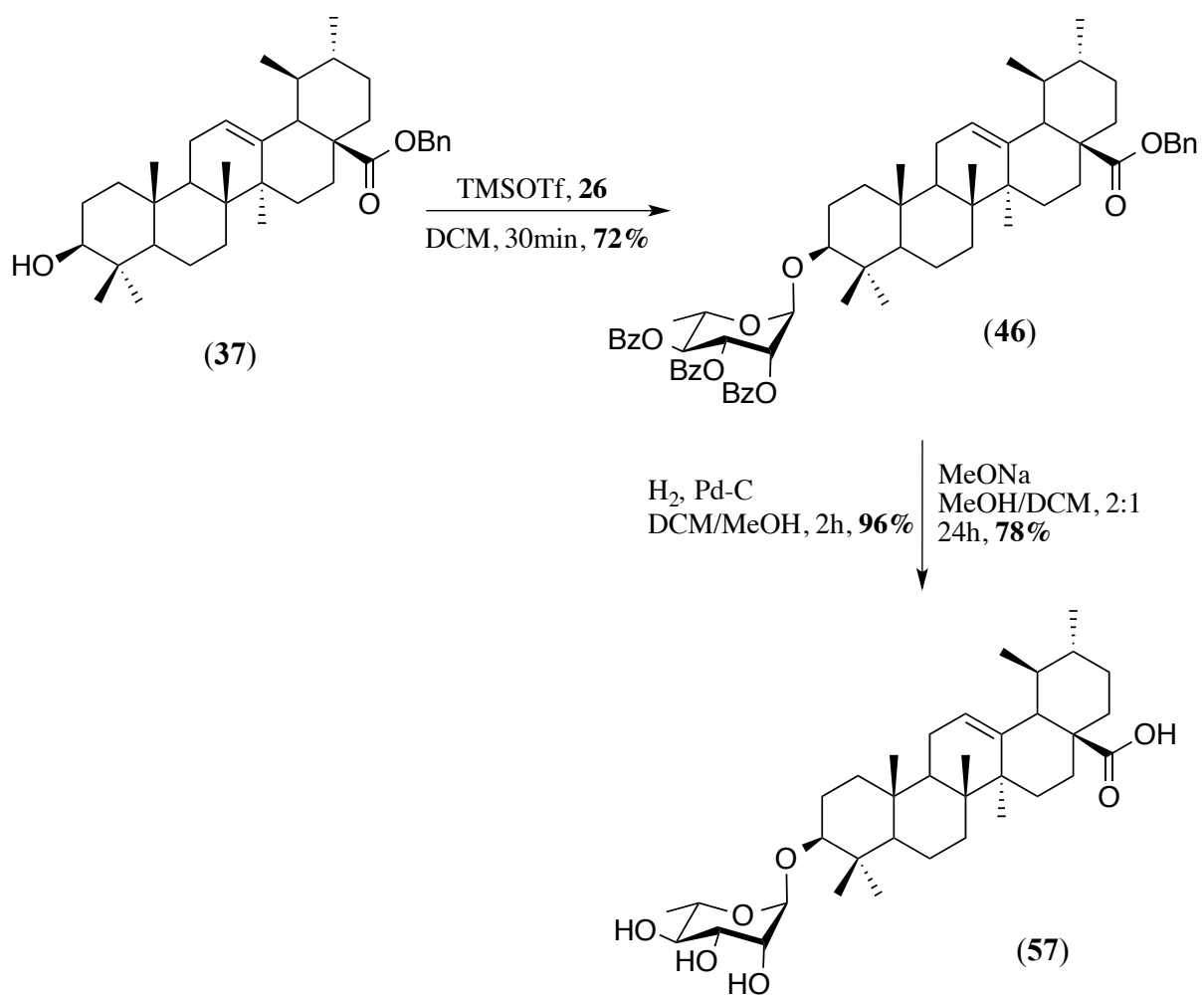
Les monosaccharides activés avec le groupement trichloroacétimide sont des donneurs de glycosides, permettant la glycosylation d'un accepteur de glycoside, réaction catalysée par un acide de Lewis le TMSOTf tel que montré à la figure 14 dans le cas de l'uvaol et à la figure 15 dans le cas de l'acide ursolique. Les glycosylations ont été effectuées sur les positions 3 et 28 de l'uvaol et sur la position 3 de l'acide ursolique. La stéréochimie est induite par les groupements protecteurs participants, qui vont permettre la formation préférentielle d'une liaison 1,2-*trans*-glycosidique. Tous les composés synthétisés ont été entièrement caractérisés par RMN et parfois en combinaison avec d'autres méthodes spectroscopiques (HRMS, indice de rotation, etc.). Les données RMN ont également permis de déterminer la stéréochimie de la liaison glycosidique. Les dérivés obtenus ont par la suite été déprotégés par méthanolyse afin d'enlever les groupements protecteurs de type benzoate. La solution de méthanolate de sodium est préparée à partir de sodium solide dissous dans du méthanol. Le mécanisme de cette étape, appelée la méthode de Zemplén, est présenté à l'annexe 1.

Au total, huit nouvelles saponines ont été synthétisées via la méthode de Schmidt. Tel que montré au Tableau 5, les rendements globaux des conditions d'hydrogénolyse de glycosylations et de déprotections, de l'ordre de 38 à 72 %, sont très bons, malgré un léger manque d'optimisation des conditions de réaction. Il faudrait ajouter à l'exception des composés (57) et (58), soient de 38 et 32 %. Ces saponines nécessitaient une étape d'hydrogénation supplémentaire, par rapport aux saponines issues de l'uvaol, ce qui peut expliquer ces rendements plus faibles.

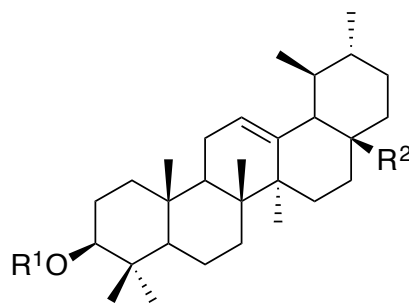
Tous les produits finaux ont été purifiés par chromatographie liquide sur gel de silice (flash chromatography) et ont été caractérisés par différentes techniques spectroscopiques (RMN, HRMS, etc.). Concernant les composés existants, il est possible d'affirmer avec certitudes que les données spectroscopiques sont en accord avec celles publiées antérieurement. De plus, les analyses des nouveaux composés nous permettent d'affirmer l'exactitude des nouvelles structures.



**Figure 14.** Synthèse du 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (47)



**Figure 15.** Synthèse du 3-O- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl acide ursolique (**57**)



**Tableau 5.** Rendements observés pour la préparation des saponines cibles (glycosylation et déprotection)

Composés	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Rendement global (%)
<b>57</b>	L-rha	COOH	38
<b>58</b>	D-gal	COOH	32
<b>47</b>	L-rha	CH <sub>2</sub> O-L-rha	57
<b>48</b>	L-fuc	CH <sub>2</sub> O-L-fuc	71
<b>49</b>	D-fuc	CH <sub>2</sub> O-D-fuc	70
<b>50</b>	L-lyx	CH <sub>2</sub> O-L-lyx	69
<b>51</b>	D-lyx	CH <sub>2</sub> O-D-lyx	72
<b>52</b>	L-ara	CH <sub>2</sub> O-L-ara	69
<b>53</b>	D-ara	CH <sub>2</sub> O-D-ara	68
<b>54</b>	L-xyl	CH <sub>2</sub> O-L-xyl	58
<b>55</b>	D-xyl	CH <sub>2</sub> O-D-xyl	54

## 4.2 Évaluation de l'activité cytotoxique des dérivés d'acide ursolique et d'uvaol

### 4.2.1 Tests de cytotoxicité

La cytotoxicité des nouveaux composés a été évaluée sur deux lignées de cellules cancéreuses et en utilisant un seul type de test. Il s'agit du test de la résazurine.

Le test de la résazurine est réalisé en mesurant l'activité cellulaire par fluorescence. Après la période d'exposition de la drogue avec le milieu cellulaire, la résazurine ou « Alamar Blue » est incubée directement dans la culture cellulaire. Les cellules vivantes vont alors convertir la résazurine en un produit rose fluorescent, la résofurine ( $\lambda = 590\text{nm}$ ), dont la quantité est proportionnelle au nombre de cellules vivantes. Par la suite, la mesure du signal de fluorescence permet de quantifier la cytotoxicité (O'Brien *et al.*, 2000).

Les lignées cancéreuses utilisées sont les A549, des cellules d'adénocarcinome alvéolaire humain, et les DLD-1, des cellules d'adénocarcinome colorectal épithéliale humain. La lignée cellulaire saine qui est utilisée dans cette étude est la WS1, qui sont des fibroblastes de peau humaine. La lignée saine permet d'avoir une indication du facteur de sélectivité des composés testés.

### 4.2.2 Étude de la cytotoxicité des composés

Par le passé, une étude a montré que l'acide ursolique avait une cytotoxicité modérée (Shan *et al.*, 2009). Ce projet a permis de réévaluer la cytotoxicité de l'acide ursolique, commercial et isolé au laboratoire. Les résultats obtenus sont plus actifs que ceux de la littérature (Shao *et al.* 2011). Dans différentes expériences, l'acide ursolique a montré une  $\text{IC}_{50}$  de  $16\text{ }\mu\text{M}$  pour les cellules A549 et DLD-1. Fait important, tel qu'indiqué au Tableau 6, l'acide ursolique ne semble pas présenter de sélectivité envers les cellules cancéreuses testées puisqu'il montre un  $\text{IC}_{50}$  autour de  $13\text{ }\mu\text{M}$  pour les cellules saines également.

Ce projet a permis de synthétiser quelques dérivés d'acide ursolique (composés **57**, **58**, **38** et **8**) et d'en évaluer la cytotoxicité sur trois lignées cellulaires. Le greffage d'une section L-rhamnose en position 3 augmente légèrement la cytotoxicité tandis que l'introduction du D-galactose la fait diminuer d'une manière importante sur toutes les lignées cellulaires testées ( $IC_{50} > 200 \mu M$ ). Il est également intéressant de souligner que la diminution de la cytotoxicité pour l'ursolate de méthyle (**38**) et l'uvaol (**8**) comparativement à l'acide ursolique (**7**) suggèrent que la fonction acide carboxylique en position 28 est importante pour la cytotoxicité.

Ce projet visait également la synthèse et l'évaluation de la cytotoxicité d'une série de dérivés de l'uvaol (**8**). Les dérivés ciblés par ce projet étaient des bidesmosides, c'est-à-dire des composés résultant du greffage de deux sucres aux positions 3 et 28. Tout d'abord, il est important de mentionner que l'uvaol seul ne montrait aucune cytotoxicité envers les lignées cellulaires testées dans ce projet.

De façon sommaire, les bidesmosides d'uvaol synthétisés montrent tous, à l'exception du bidesmoside (**54**), porteur de deux unités de L-xylose, une plus forte cytotoxicité que l'aglycone de départ. Les bidesmosides du L-rhamnose (**47**), du D-fucose (**49**), du D-arabinose (**53**) et du D-xylose (**55**) montrent des  $IC_{50}$  inférieures à  $16 \mu M$  envers les lignées cellulaires cancéreuses. De plus, certains de ces composés ont présenté un facteur de sélectivité favorable pour les cellules A549 par rapport aux cellules saines WS1. En effet, le bidesmoside de L-rhamnose (**47**) montre respectivement une  $IC_{50}$  de  $4,5 \mu M$  envers les cellules A549 et une  $IC_{50}$  de  $14 \mu M$  envers les cellules saines WS1, soit un facteur de sélectivité d'environ 3.

Le présent projet visait également l'évaluation de l'impact du greffage de sucres des séries D et L sur la cytotoxicité. Les bidesmosides issus de sucre des séries D et L du fucose, du lyxose, de l'arabinose et du xylose ont été préparés en utilisant l'uvaol comme aglycone de départ. Les résultats préliminaires suggèrent que les bidesmosides issus des sucres de la série D sont plus cytotoxiques que ceux issus de la série L. Cette différence est particulièrement marquée dans le cas du xylose. En effet, le bidesmoside du L-xylose (**50**) ne montre aucune activité cytotoxique

sur les trois lignées cellulaires A549, DLD-1 et WS1 ( $IC_{50} > 200 \mu M$ ) tandis que son homologue, le D-xylose (**55**), montre une activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses avec des  $IC_{50}$  d'environ  $15 \mu M$ .

Le candidat le plus intéressant de tous les composés synthétisés et testés dans le cadre de ce projet est le bidesmoside de L-rhamnose (**47**). En effet, celui-ci montre un facteur de sélectivité d'environ 3, avec un  $IC_{50}$  de  $4,5 \mu M$  sur les cellules A549 et de  $14 \mu M$  sur les cellules saines. Il est dommage, faute de temps, que ce projet n'est pas permis de synthétiser et de tester le bidesmoside de D-rhamnose.

**Tableau 6.** Activité cytotoxique des dérivés glycosylés d'acide ursolique et d'uvaol à l'aide du test à résazurine

Composés	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Lignées cellulaires		
			IC <sub>50</sub> (μM ± écart-type)		
			A549	DLD-1	WS1
<b>7</b>	H	COOH	16 ± 2 μM	16 ± 2 μM	13,1 ± 0,5 μM
<b>57</b>	L-rha	COOH	14 ± 1 μM	11,1 ± 1 μM	8,5 ± 0,6 μM
<b>58</b>	D-gal	COOH	>200 μM	>200 μM	>200 μM
<b>38</b>	H	COOCH <sub>3</sub>	50 ± 3 μM	51 ± 3 μM	51 ± 1 μM
<b>8</b>	H	CH <sub>2</sub> OH	>200 μM	>200 μM	>200 μM
<b>47</b>	L-rha	CH <sub>2</sub> O-L-rha	4,5 ± 0,5 μM	11,4 ± 0,9 μM	14 ± 1 μM
<b>48</b>	L-fuc	CH <sub>2</sub> O-L-fuc	36 ± 2 μM	48 ± 2 μM	62 ± 2 μM
<b>49</b>	D-fuc	CH <sub>2</sub> O-D-fuc	8,9 ± 0,4 μM	12,0 ± 0,8 μM	16 ± 2 μM
<b>50</b>	L-lyx	CH <sub>2</sub> O-L-lyx	54 ± 6 μM	57 ± 5 μM	58 ± 11 μM
<b>51</b>	D-lyx	CH <sub>2</sub> O-D-lyx	34 ± 7 μM	38 ± 1 μM	30 ± 8 μM
<b>52</b>	L-ara	CH <sub>2</sub> O-L-ara	24 ± 3 μM	31 ± 4 μM	37 ± 5 μM
<b>53</b>	D-ara	CH <sub>2</sub> O-D-ara	9,8 ± 1,0 μM	16 ± 1 μM	20 ± 2 μM
<b>54</b>	L-xyl	CH <sub>2</sub> O-L-xyl	>200 μM	>200 μM	>200 μM
<b>55</b>	D-xyl	CH <sub>2</sub> O-D-xyl	15 ± 4 μM	14,9 ± 0,9 μM	20 ± 2 μM



## **Chapitre 5**

### **CONCLUSION**

L'objectif principal du projet consistait à améliorer les propriétés pharmacologiques pour la cytotoxicité et la sélectivité de l'acide ursolique (**7**) et de l'uvaol (**8**) par le greffage d'une ou de deux sections sucres en utilisant les conditions de glycosylation de Schmidt avec des sucres activés et protégés avec des groupements protecteurs participants. Une série de 11 glycosides a été synthétisée dans ce projet dont deux monodesmosides (aglycone porteur d'une section sucre en position 3) et neuf bidesmosides (aglycone porteur de deux sections sucres aux positions 3 et 28). Les rendements de synthèse obtenus et non optimisés pour la glycosylation et les déprotections varient de 35 % à 68 %.

L'évaluation de la cytotoxicité de ces composés a permis de dégager certaines informations préliminaires sur l'importance de la nature de la section sucre. Tout d'abord, l'acide ursolique **7** n'a pas montré de sélectivité envers les cellules cancéreuses (A549 et DLD-1) par rapport aux cellules saines WS1. Les analogues simples de l'acide ursolique tels que l'ursolate de méthyle (**38**) et l'uvaol (**8**) n'ont pas montré pas de cytotoxicité notable ( $IC_{50} \geq 50 \mu M$ ). Parmi les deux glycosides d'acide ursolique synthétisés dans ce projet, seul le 3-L-rhamnoside d'acide ursolique (**57**) montre une cytotoxicité très faiblement améliorée par rapport à l'acide ursolique (**7**). La majorité des bidesmosides synthétisés montrent une cytotoxicité plus marquée que l'uvaol (**8**), l'aglycone de départ. De plus, certains des bidesmosides d'uvaol montrent une sélectivité intéressante envers les cellules cancéreuses testées. C'est le cas pour les bidesmosides de L-rhamnose (**47**), de D-fucose (**49**) et de D-arabinose (**53**). Les résultats de l'évaluation de la cytotoxicité pour les bidesmosides de sucres de la série D et L du fucose, du lyxose, de l'arabinose et du xylose indiquent, de façon préliminaire, que les glycosides issus des sucres de la série D sont plus cytotoxiques que ceux issus de la série L. De l'ensemble des glycosides évalués dans ce projet, le bidesmoside de L-rhamnose d'uvaol (**47**) semble être le produit le plus intéressant de cette série. En effet, il montre une forte activité cytotoxique sélective envers les cellules cancéreuses du poumon A549 ( $IC_{50} = 4.5 \mu M$ ) comparativement aux cellules saines (14  $\mu M$  pour WS1).

En guise de perspective et afin d'être plus systématique, il serait intéressant de préparer et d'évaluer la cytotoxicité d'une série plus importante de monodesmosides d'uvaol et d'acide

ursolique afin de mieux cerner l'importance des sections sucres pour le caractère cytotoxique et la sélectivité. La série de bidesmosides pourrait également être étendue. Finalement, il serait intéressant de mieux caractériser l'activité biologique (études *in vivo*, études *in vitro* élargies sur un plus large éventail de lignées cellulaires, etc.) du bidesmoside de L-rhamnose d'uvaol (47). Par la suite de synthétiser le bidesmoside de D-rhamnose d'uvaol et le comparer au composés (47), puis d'étudier l'influence de la stéréochimie sur l'activité biologique.

## Références

- Amelio, M.; Rizzo, R.; Varazini, F.; **1992**. Determination of Sterols, Erythrodiol, Uvaol and Alkanols in Olive Oils Using Combined Solid-Phase Extraction, High-Performance Liquid Chromatographic and High-Resolution Gas Chromatographic Techniques. *J. Chromatogr. A.*, 606, 179–185.
- Andersson, D.; Liu, J.-J.; Nilsson, A.; Duan, R.-D.; **2003**. Ursolic Acid Inhibits Proliferation and Stimulates Apoptosis in HT29 Cells Following Activation of Alkaline Sphingomyelinase. *Anticancer Res.*, 23, 3317–3322.
- Baglin, I.; Nour, M.; Tan, K.; Cavé, C.; Lacaille-Dubois, M.-A.; **2003**. A Review of Natural and Modified Betulinic, Ursolic and Echinocystic Acid Derivatives as Potential Antitumor and Anti-HIV Agents. *Mini Rev. Med. Chem.*, 3, 525–539.
- Banno, N.; Akihisa, T.; Tokuda, H.; Yasukawa, K.; Higashihara, H.; Ukiya, M.; Watanabe, K.; Kimura, Y.; Hasegawa, J.-I.; Nishino, H.; **2004**. Triterpene Acids from the Leaves of *Perilla frutescens* and Their Anti-Inflammatory and Antitumor-Promoting Effects. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68, 85-90.
- Bliard, C.; Massiot, G.; Nazabadioko, S.; **1994**. Glycosylation of Acids under Phase Transfer Conditions. Partial Synthesis of Saponins. *Tetrahedron Lett.*, 35, 6107–6108.
- Bien, F.; Ziegler, T.; **1998**. Chemoenzymatic synthesis of glycosylated enantiomerically pure 4-pentene 1,2- and 1,3-diol derivatives. *Tetrahedron Asymmetry*, 9, 781-791.
- BRUNETON, J.; **2004**. Phytochimie - Plantes Médicinales. *Pharmacognosie*, 4<sup>ème</sup> édition, 1-915.

- Byung, S. M.; Hyun, J. J.; Jun, S. L.; Young, H. K.; Song, H. B.; Chao, M. M.; Nakamura, N.; Hattori, M.; Bae, K.; **1999**. Inhibitory Effect of Triterpenes from *Crataegus Pinatifida* on HIV-I Protease. *Planta Med.*, *65*, 374–375.
- Canadian Cancer Society. **2015**, 1–151.
- Cha, H.; Bae, S.; Lee, H.; Kim, K.; **1996**. Anti-Invasive Activity of Ursolic Acid Correlates with the Reduced Expression of Matrix Metalloproteinase-9 ( MMP-9 ) in HT 1080 human fibrosarcoma cells. *Cancer Res.*, *56*, 2281–2284.
- Chen, Y.; Liu, J.; Yang, X.; Zhao, X.; Xu, H.; **2005**. Oleanolic Acid Nanosuspensions: Preparation, in-Vitro Characterization and Enhanced Hepatoprotective Effect. *J. Pharm. Pharmacol.*, *57*, 259–264.
- Chen, L.; Kong, F.; **2002**. An Efficient and Practical Synthesis of  $\beta$ -(1→3)-Linked Xylooligosaccharides. *Carbohydr. Res.*, *337*, 2335–2341.
- Comité consultatif de la Société canadienne du cancer. *Société Can. du cancer* **2016**, 1–153.
- Deng, S.; Yu, B.; Xie, J.; Hui, Y.; **1999**. Highly Efficient Glycosylation of Sapogenins. *J. Org. Chem.*, *64*, 7265–7266.
- Dufour, D.; Pichette, A.; Mshvildadze, V.; Bradette-Hébert, M. E.; Lavoie, S.; Longtin, A.; Laprise, C.; Legault, J.; **2007**. Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Methanolic Extracts from *Ledum Groenlandicum* Retzius. *J. Ethnopharmacol.*, *111*, 22–28.
- Fang, X.; Nanayakkara, N. P.; Phoebe Jr., C. H.; Pezzuto, J. M.; Kinghorn, A. D.; Farnsworth, N. R.; **1985**. Plant Anticancer Agents Constituents of *Amanoa oblongifolia*1. *Planta Med.*, *51*, 346–347.

- Frighetto, R. T. S.; Welendorf, R. M.; Nigro, E. N.; Frighetto, N.; Siani, A. C.; **2008**. Isolation of Ursolic Acid from Apple Peels by High Speed Counter-Current Chromatography. *Food Chem.*, *106*, 767–771.
- Gauthier, C.; Legault, J.; Girard-Lalancette, K.; Mshvildadze, V.; Pichette, A.; **2009**. Haemolytic Activity, Cytotoxicity and Membrane Cell Permeabilization of Semi-Synthetic and Natural Lupane- and Oleanane-Type Saponins. *Bioorg. Med. Chem.*, *17*, 2002–2008.
- Gauthier, C.; Legault, J.; Lebrun, M.; Dufour, P.; Pichette, A.; **2006**. Glycosidation of Lupane-Type Triterpenoids as Potent in Vitro Cytotoxic Agents. *Bioorg. Med. Chem.*, *14*, 6713–6725.
- Giaeli, C.; Theocharis, A.D.; Karamanos, N.K.; **2011**. Roles of matrix metalloproteinases in cancer progression and their pharmacological targeting. *The Journal FEBS*, *278*, 16–27.
- Gintl, W., H.; **1893**. Über Das Urson. *Monatshefte für Chemie*, 255–269.
- Guang, B.; Liu, J.; Dong, G.; Peng, X.; Gomg, X.; Zhen, H.; Zhou, M.; **2010**. Use of Ursolic Acid Saponin, oleanolic Acid Saponin in Preparation of Increasing Leucocytes And/or Platelet Medicine. *Patent US 2010/0197898 A1*.
- Gupta; T.; N.; Bhalla; G.; P.; Gupta; C.; R.; Mitra; K.; Bhagavar P.; **1969**.. Anti-inflammatory activity of natural products (I) triterpenoids. *Eur. J. Pharmacol*, *1*, 67–70.
- Hirota, M.; Mori, T.; **1990**. Suppression of Tumor Promoter- Induced Inflammation of Mouse Ear by Ursolic Acid and 4 , 4- Dimethylcholestane Derivatives. *Agric. Biol. Chem.*, *54*, 1073–1075.
- Huang, M.; Ho, CT.; Wang, ZY.; Ferraro, T.; Lou, YR.; Stauber, K.; Ma, W.; Georgiadis, C.;

- Laskin, J.D.; Conney, A.H.; **1994**. Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Res.*, 54, 701–708.
- Jack, B.; Parks, L. M.; Dunker, M. F. W.; **1937**. The Identification of a Diol Isolated from Uva Ursi. *J. Pharm. Sci.*, 39–42.
- Kazakova, O. B.; Giniyatullina, G. V.; Tolstikov, G. a.; Baikova, I. P.; Zaprutko, L.; Apyrshko, G. N.; **2011**. Synthesis and Antitumor Activity of Aminopropoxy Derivatives of Betulin, Erythrodiol, and Uvaol. *Russ. J. Bioorganic Chem.*, 37, 369–379.
- Kessenbrock, K.; Plaks, V.; Werb, Z.; **2010**. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 141, 52–67.
- Kim, S. H.; Ryu, S. Y.; **1998**. Antitumour Effect of Ursolic Acid Isolated from Oldenlandia Diffusa. *Phytother. Res.*, 12, 553–556.
- Kosuge, T.; Yokota, M.; Sugiyama, K.; Mure, T.; Yamazawa, H.; Yamamoto, T.; **1985**. Studies on bioactive substances in crude drugs used for arthritic diseases in traditional chinese medecin. III. Isolation and identification of anti-inflammatory and analgesic principles from the whole herb of *Pyrola rotundifolia* L. *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 5355–5357.
- Lee, H. Y.; Chung, H. Y.; Kim, K. H.; Lee, J. J.; Kim, K. W.; **1994**. Induction of Differentiation in the Cultured F9 Teratocarcinoma Stem Cells by Triterpene Acids. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 120, 513–518.
- Legault, J.; Dahl, W.; Debiton, E.; Pichette, A.; Madelmont, J. C.; **2003**. Antitumor activity of balsam fir oil: production of reactive oxygen species induced by alphahumulene as possible mechanism of action. *Planta Med.*, 69, 402–407.

- Liao, CH.; Kuo, YH.; Ho, YL.; Wang, CY.; **2014**. Studies on cytotoxic constituents from leaves of *elaegnus oldhamii* maxim. In non-small cell lung cancer A549 cells. *Molecules*, 19, 9515–9534.
- Liu, J.; **2005**. Oleanolic Acid and Ursolic Acid: Research Perspectives. *J. Ethnopharmacol.*, 100, 92–94.
- Liu, J.; **1995**. Review Article Pharmacology of Oleanolic Acid and Ursolic Acid. *J. Ethnopharmacol.*, 49, 57–68.
- Liu, J.; Henkel, J.; **2002**. Traditional Chinese Medicine (TCM): Are Polyphenols and Saponins the Key Ingredients Triggering Biological Activities ? *Curr. Med. Chem.*, 9, 1483–1485.
- Liu, M. C.; Yang, S. J.; Jin, L. H.; Hu, D. Y.; Xue, W.; Song, B. A.; Yang, S.; **2012**. Synthesis and Cytotoxicity of Novel Ursolic Acid Derivatives Containing an Acyl Piperazine Moiety. *Eur. J. Med. Chem.*, 58, 128–135.
- Martins, A.; Vasas, A.; Viveiros, M.; Molnr, J.; Hohmann, J.; Amaral, L.; **2011**. Antibacterial Properties of Compounds Isolated from *Carpobrotus Edulis*. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 37, 438–444.
- Meng, Y.; Song, Y.; Yan, Z.; Xia, Y.; **2010**. Synthesis and *in vitro* Cytotoxicity of Novel Ursolic Acid Derivatives. *Molecules*, 15, 4033–4040.
- Mikkelsen, G.; Christensen, T. V.; Bols, M.; Lundt, I.; Sierks, M. R.; **1995**. Aglycon Mimicking: Glycoside Bond Cleavage Transition State Mimics Based on Hydroxypyrrolidine Inhibitors. *Tetrahedron Lett.*, 36, 6541–6544.



- Miyase, T.; Shiokawa, K.; Zhanc, D. M.; Ueno, A.; **1996**. Araliasaponins I-Xi, Triterpene Saponins. *Phytochem.*, 41, 1411–1418.
- Mshvildadze, V.; Legault, J.; Lavoie, S.; Gauthier, C.; Pichette, A.; **2007**. Anticancer Diarylheptanoid Glycosides from the Inner Bark of *Betula Papyrifera*. *Phytochem.*, 68, 2531–2536.
- Nascimento, P. G. G.; Lemos, T. L. G.; Bizerra, A. M. C.; Arriaga, Â. M. C.; Ferreira, D. a; Santiago, G. M. P.; Braz-filho, R.; Costa, J. G. M.; **2014**. Antibacterial and Antioxidant Activities of Ursolic Acid. *Molecules*, 19, 1317–1327.
- O'Brien, J.; Wilson, I.; Orton, T.; and Pognan, F.; **2000**. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity. *Eur. J. Biochem.*, 267, 5421–5426.
- Ohigashi, H.; **1986**. Search for Possible Antitumor Promoters By Inhibition. *Cancer Lett.*, 30, 143–151.
- Ozols, R., F.; Bundy, B., N.; Greer, B., E.; et al.; **2003**. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: A Gynecologic Oncology Group study. *J. Clin Oncol.*, 21, 17, 3194–3200.
- Pádua, TA,; Abreu, BB.; Costa, T,; Nakamura, M.; Valente, L.; Henriques, M.; Siani, A.; Rosa E.; **2014**. Anti-inflammatory effects of methyl ursolate obtained from a chemically derived crude extract of apple peels: potential use in rheumatoid arthritis. *Arch. Pharm. Res.*, 37, 11, 1487–1495.
- Paulsen, H.; **1982**. Advances in Selective Chemical Syntheses of Complex Oligosaccharides. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 21, 155–173.

- Phillips, D. R.; Rasbery, J. M.; Bartel, B.; Matsuda, S. P.; **2006**. Biosynthetic Diversity in Plant Triterpene Cyclization. *Curr. Opin. Plant Biol.*, *9*, 305–314.
- Piccart, M., J.; and Cardoso, F.; **2003**. Progress in systemic therapy for breast cancer: an overview and perspectives: *Eur. J. Cancer*, vol. 1, no. 2, pp. 56–69.
- Plé, K.; Chwalek, M.; Voutquenne-Nazabadioko, L.; **2004**. Synthesis of  $\alpha$ -Hederin,  $\delta$ -Hederin, and Related Triterpenoid Saponins. *Eur. J. Org. Chem.*, *7*, 1588–1603.
- Pougny, JR.; Sinaÿ, P.; **1976**. Réaction d'imidates de glucopyranosyle avec l'acétonitrile. Applications synhtétiques. *Tetrahedron Letters*, *17*, 45, 4073–4076.
- Quere, L.; Wenger, T.; Schramm, H., J.; **1996**. Triterpenes as potential dimerization inhibitors of HIV- 1 protease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, *227*, 484–488.
- Rao, V.; Gurfinkel, D. M.; **2000**. The Bioactivity of Saponins: Triterpenoid and Steroidal Glycosides. *Drug Metabol. Drug Interact.*, *17*, 211–235.
- Rio, S.; Beau, J. M.; Jacquinet, J. C.; **1994**. Synthesis of Sulfated and Phosphorylated Glycopeptides from the Carbohydrate-Protein Linkage Region of Proteoglycans. *Carbohydr. Res.*, *255*, 103–124.
- Saady, D.; Delage, C.; Simon, A.; Chulia, A. J.; **1995**. Anti-Proliferative Effects of Uvaol. *Fitoterapia*, *66*, 366–369.
- Sánchez Casas, J.; Osorio Bueno, E.; Montañó García, A. M.; Martinez Cano, M.; **2004**. Sterol and Erythrodiol and Uvaol Content of Virgin Olive Oils from Cultivars of Extremadura (Spain). *Food Chem.*, *87*, 225–230.
- Schmidt, R. R.; and Michel, J.; **1980**. *Angew. Chem. Int. Ed.*, *92*, 763–764.

- Schmidt, R. R.; **1986**. New Methods for the Synthesis of Glycosides and Oligosaccharides- Are There Alternatives to the Koenigs-Knorr Method ? *Angew. Chem. Int. Ed.*, **25**, 212–235.
- Sha, Y.; Yan, MC.; Liu, J.; Liu, Y.; Cheng, MS.; **2008**. Facile synthesis of oleanolic acid monoglycosides and diglycosides. *Molecules*, **13**, 1472–1486.
- Shan, J.; Xuan, Y.; Zheng, S.; Dong, Q.; Zhang, S.; **2009**. Ursolic Acid Inhibits Proliferation and Induces Apoptosis of HT-29 Colon Cancer Cells by Inhibiting the EGFR/MAPK Pathway. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.*, **10**, 668–674.
- Shao, J.-W.; Dai, Y.-C.; Xue, J.-P.; Wang, J.-C.; Lin, F.-P.; Guo, Y.-H.; **2011**. In Vitro and in Vivo Anticancer Activity Evaluation of Ursolic Acid Derivatives. *Eur. J. Med. Chem.*, **46**, 2652–2661.
- Simard, F.; Legault, J.; Lavoie, S.; Mshvildadze, V.; Pichette, A.; **2008**. Isolation and identification of cytotoxic compounds from wood of *Pinus resinosa*. *Phytother. Res.*, **22**, 919–922.
- Sirois, G.; **2005**. La récolte de l'if au Québec. *Le monde forestier*, pp 26–28.
- Somova, L. I.; Shode, F. O.; Mipando, M.; **2004**. Cardiotonic and Antidysrhythmic Effects of Oleanolic and Ursolic Acids, Methyl Maslinate and Uvaol. *Phytomedicine*, **11**, 121–129.
- Suh, N.; Honda, T.; Finlay, H. J.; Suh, N.; Barchowsky, A.; Williams, C.; Benoit, N. E.; Xie, Q.; Nathan, C.; Gribble, G. W.; Sporn, M. B.; **1998**. Novel Triterpenoids Suppress Inducible Nitric Oxide Synthase ( iNOS ) and Inducible Cyclooxygenase ( COX-2 ) in Mouse Macrophages Novel Triterpenoids Suppress Inducible Nitric Oxide Synthase (

iNOS ) and Inducible Cyclooxygenase ( COX-2 ) in Mouse Macr. *Cancer Res.*, 717–723.

Tokuda, H.; Ohigashi, H.; Koshimizu, K.; Ito, Y.; **1986**. Inhibitory Effects of Ursolic and Oleanolic Acid on Skin Tumor Promotion by 12-O-Tetradecanoylphorbol-13-Acetate. *Cancer Lett.*, 33, 279–285.

Trumbull, E. R.; Bianchi, E.; Eckert, D. J.; Wiedhopf, R. M.; Cole, J. R.; **1976**. Tumor Inhibitory Agents from *Vauquelinia Corymbosa* (Rosaceae). *J. Pharm. Sci.*, 65, 1407–1408.

Uprety, Y.; Asselin, H.; Dhakal, A.; Julien, N.; **2012**. Traditional Use of Medicinal Plants in the Boreal Forest of Canada: Review and Perspectives. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, 8, 1–14.

Voutquenne, L.; **2001**. Saponins and Hemolytic Activity. Saponins and Glycosides from Five Species of Sapindaceae. *Ann. Pharm. Fr.*, 59, 407–414.

Wamy, S.; Muthu, Kumara, L.; Benny, T.; Kwong, H.; **2001**. Extraction, Isolation and Characterisation of Antitumor Principle, a  $\alpha$ -Hederin, from the Seeds of *Nigella Sativa*. *Planta Med.*, 67, 29–32.

World Health Statistics. Causes of Death 2008 : Data Sources and Methods. *World Health* **2011**, 2010, 1–28.

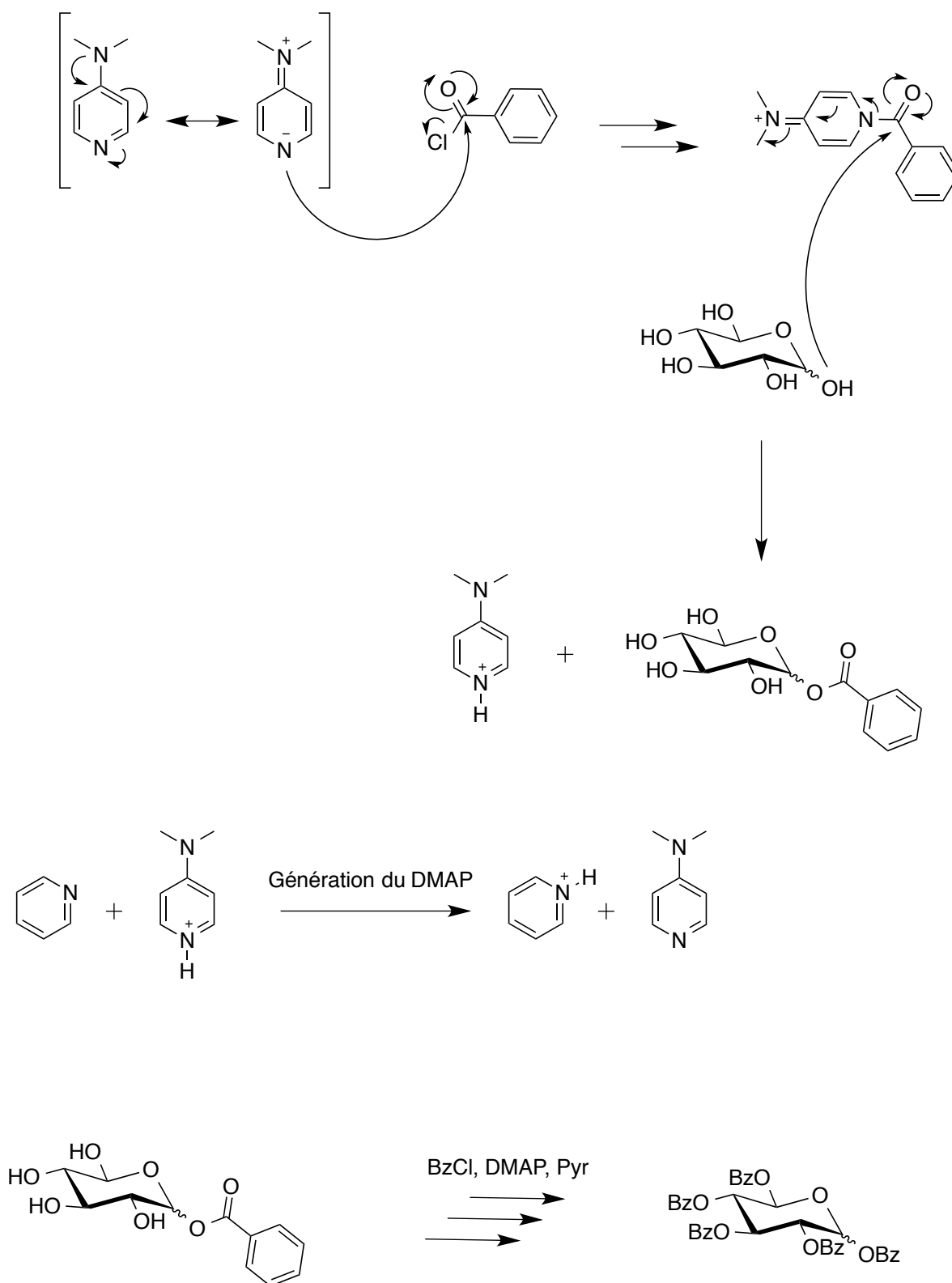
Zhang, Z.; Lu, L.; Luo, P.; Qing, L.; Liu, Y.; **2013**. Two New Ursolic Acid Saponins from *Morina Nepalensis* Var. *Alba* Hand-Mazz. *Nat. Prod. Res.*, 27, 2256–2262.

Zymalkowski, F.; **1969**. Ursolsäure Und Uvaol. *Pharmazeutischen Institut der Universität Bonn*, 8, 2–7.

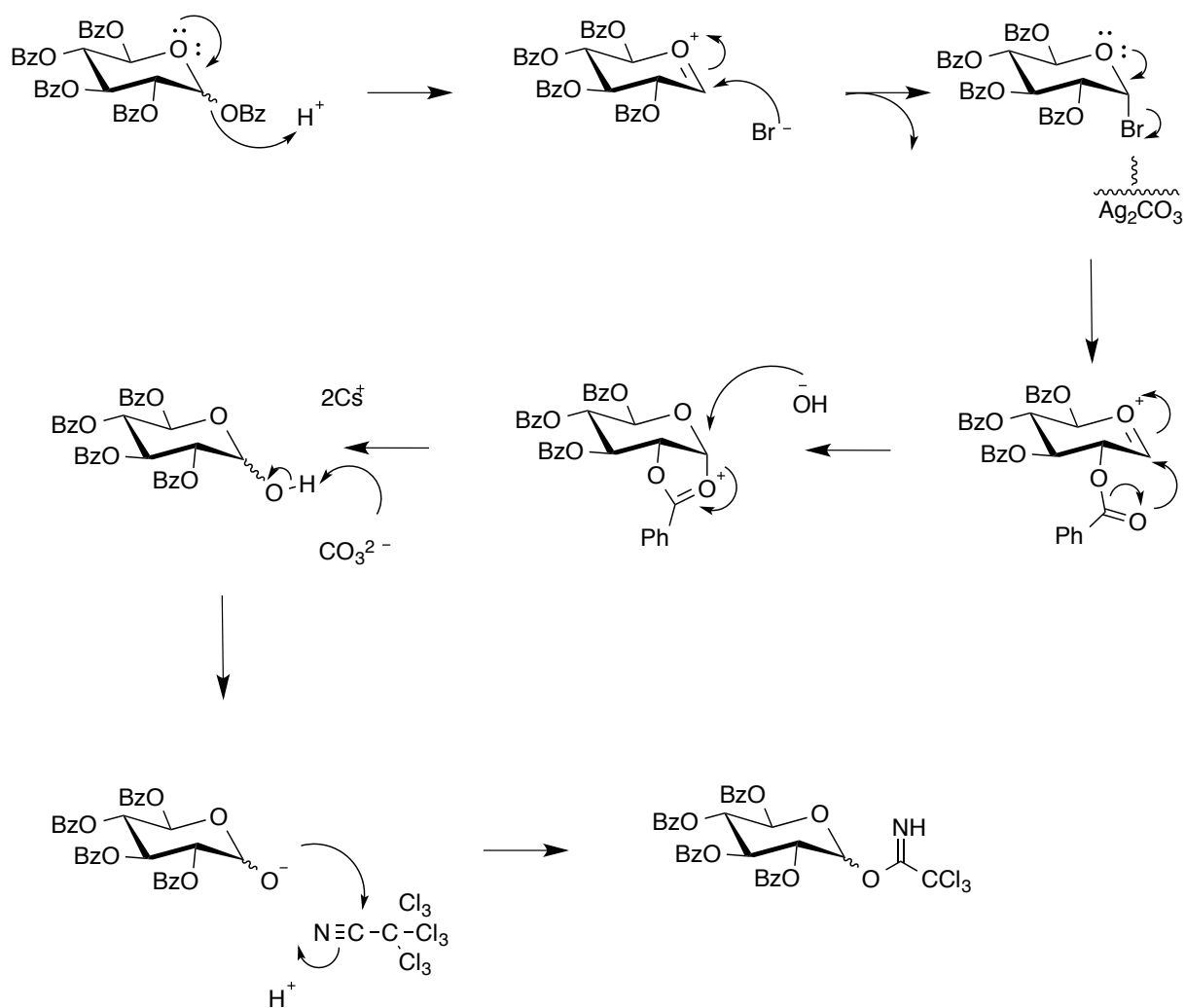
## **ANNEXE 1**

### Mécanismes réactionnels

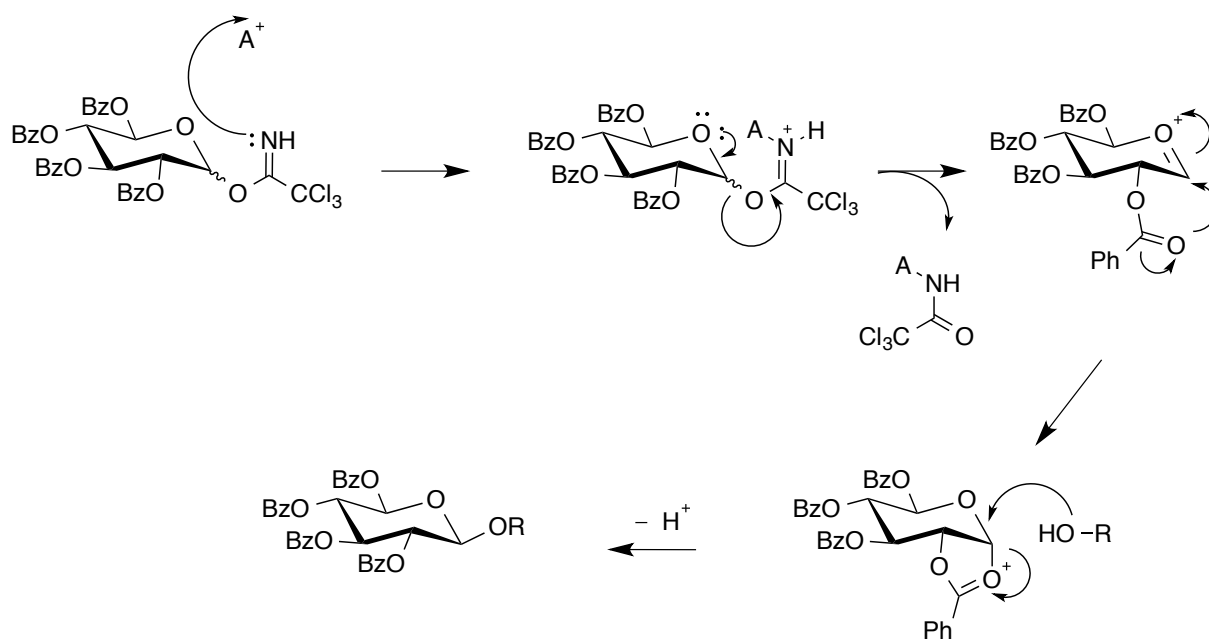
## Benzoylation des sucres



## Synthèse des trichloroacétimides



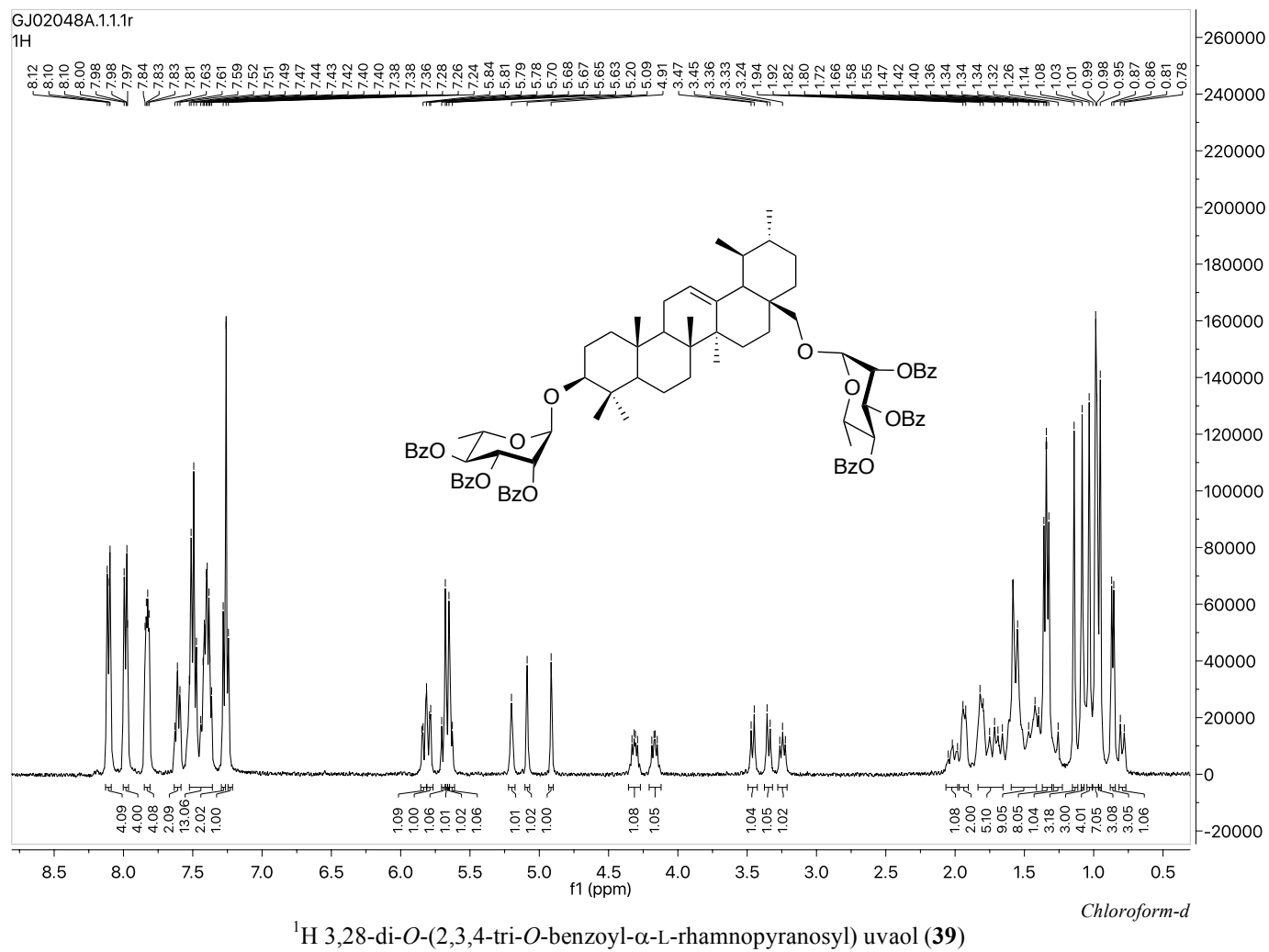
## Glycosylations

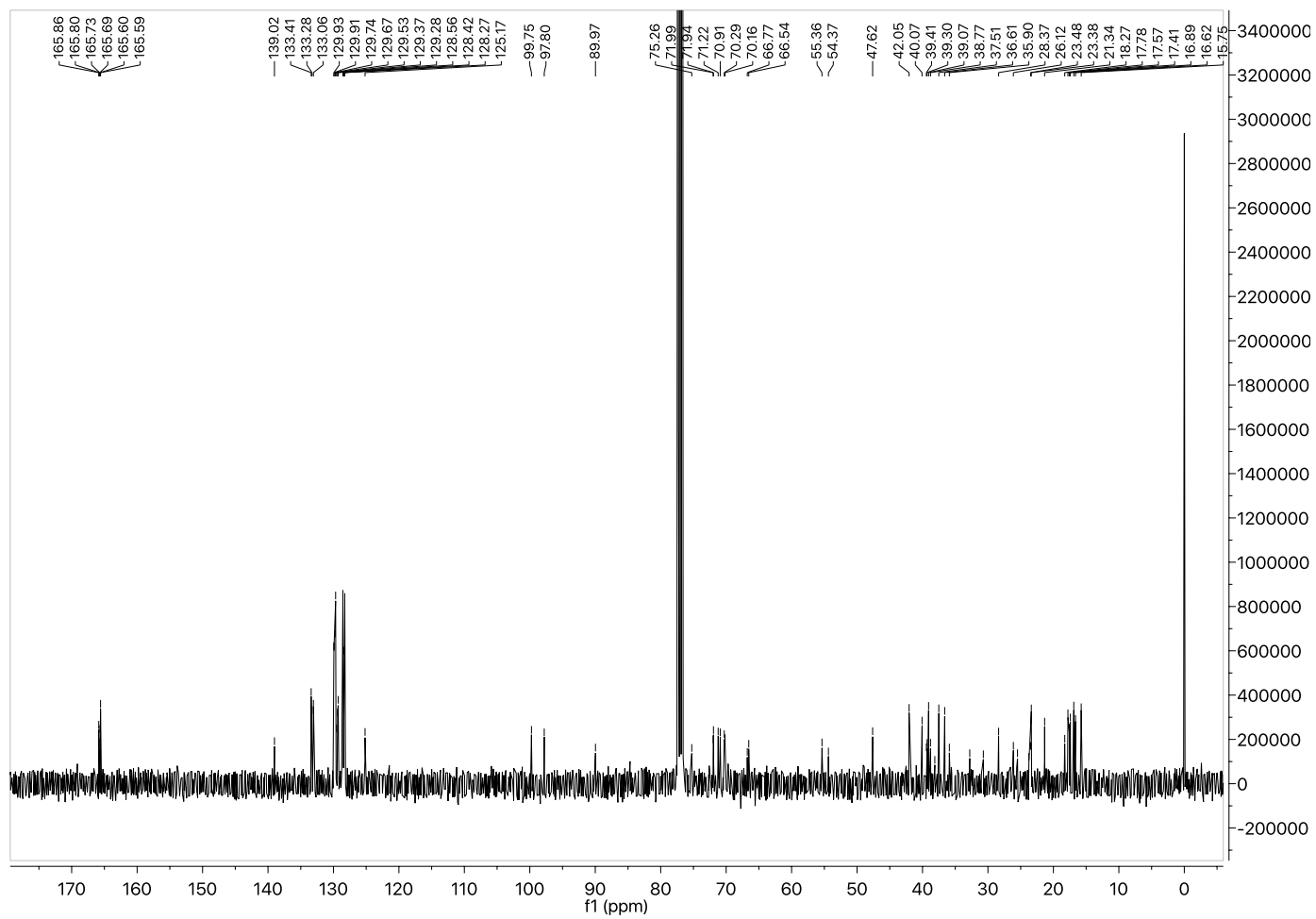




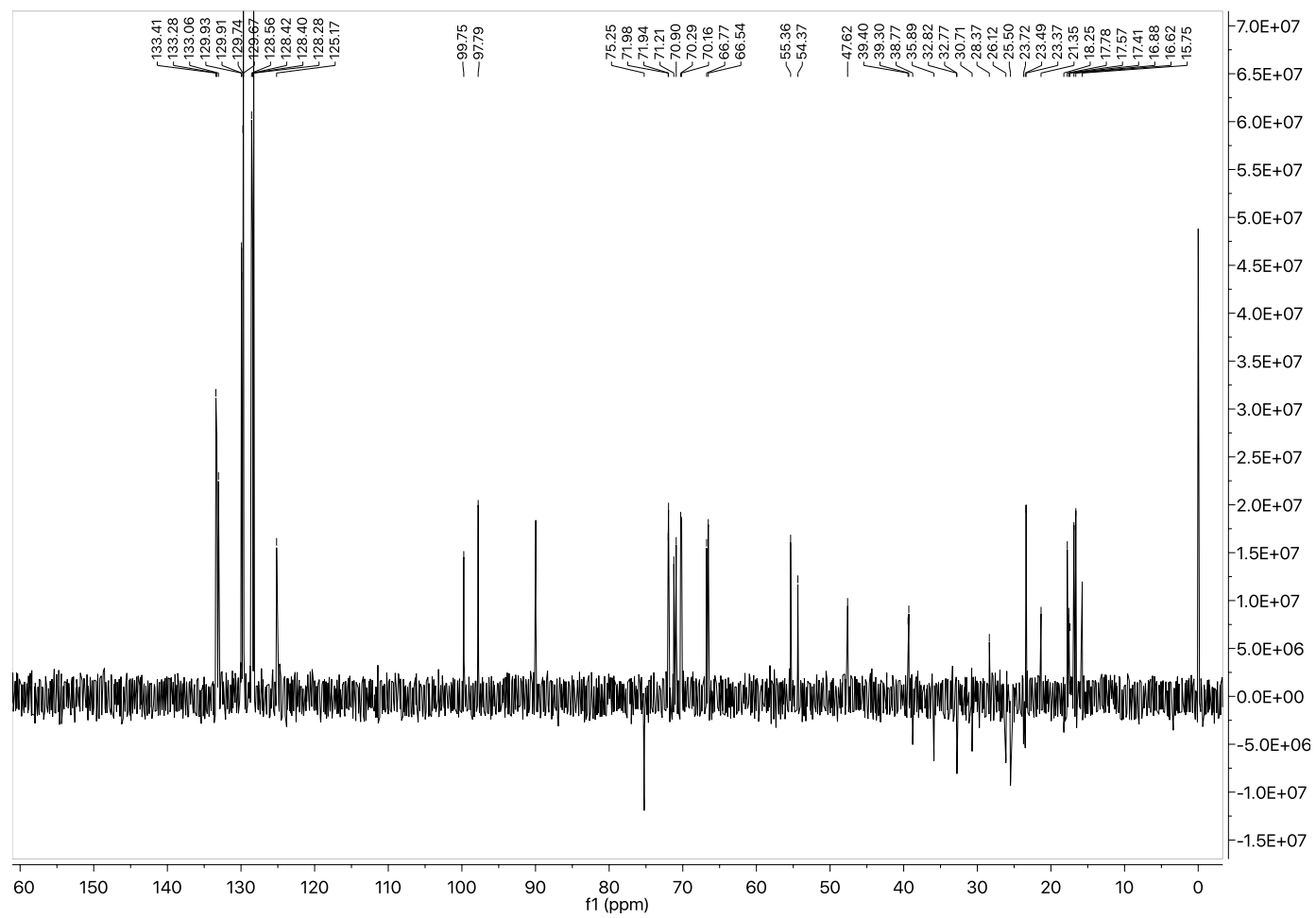
## **ANNEXE 2**

### Spectres RMN

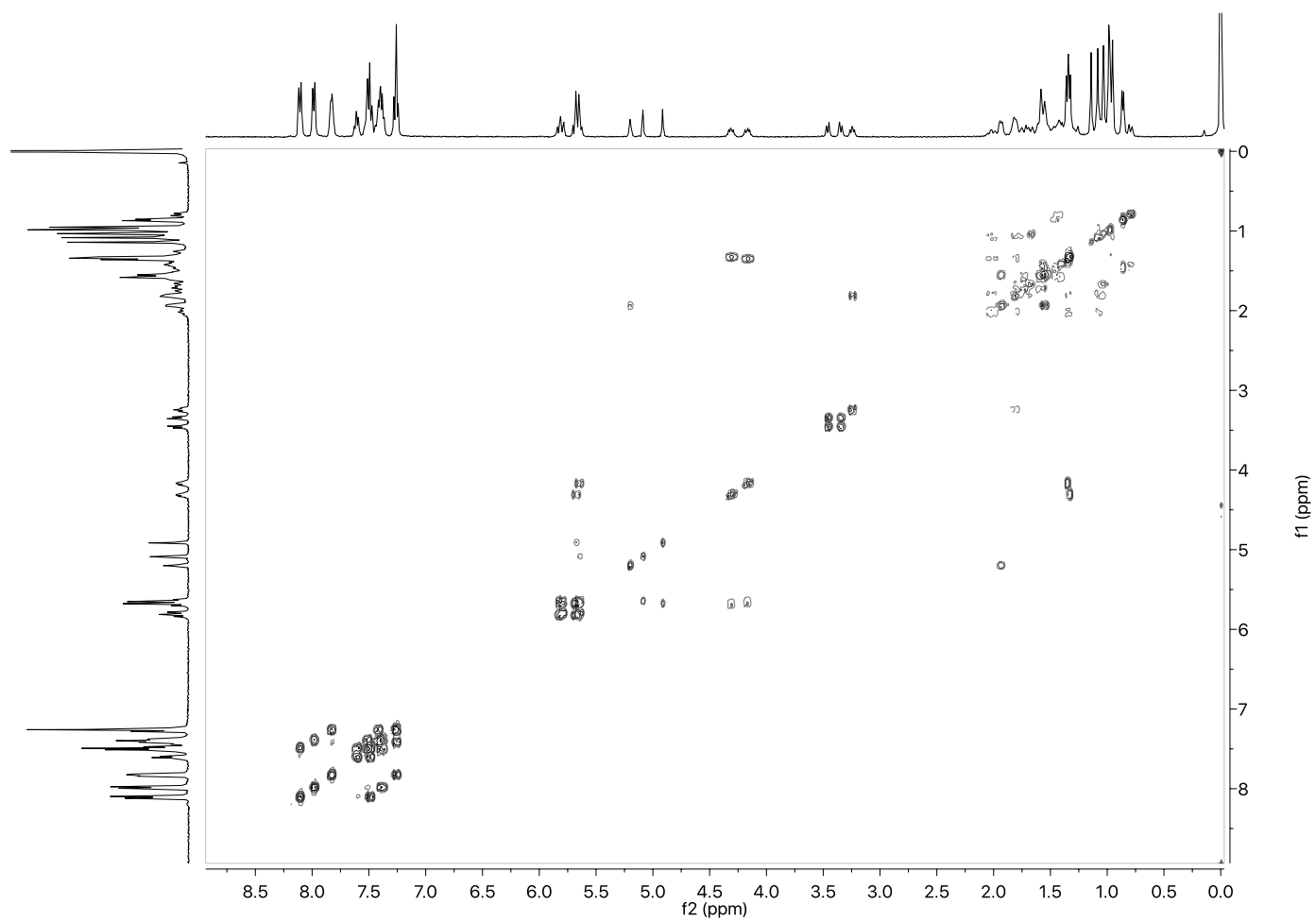




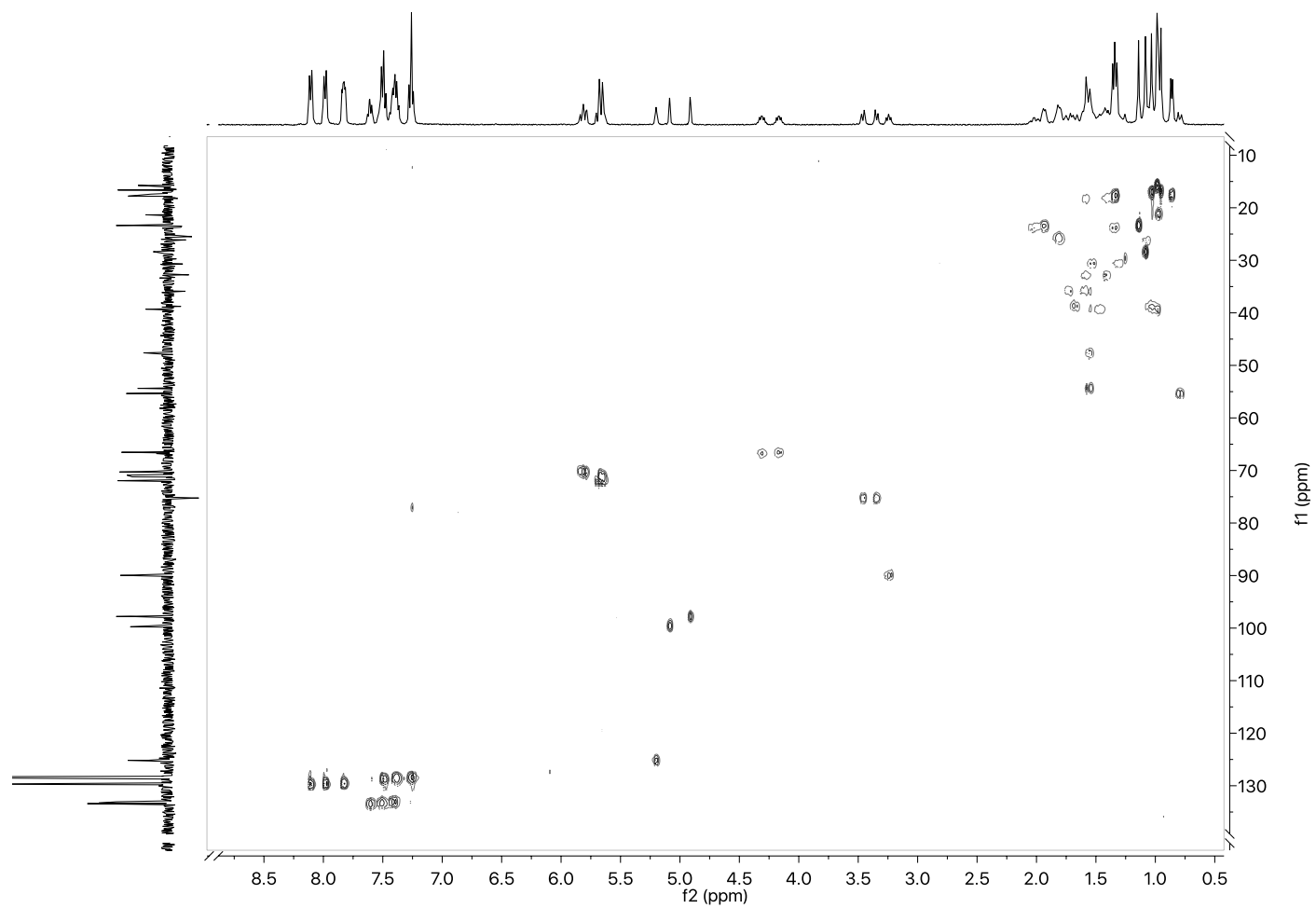
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)

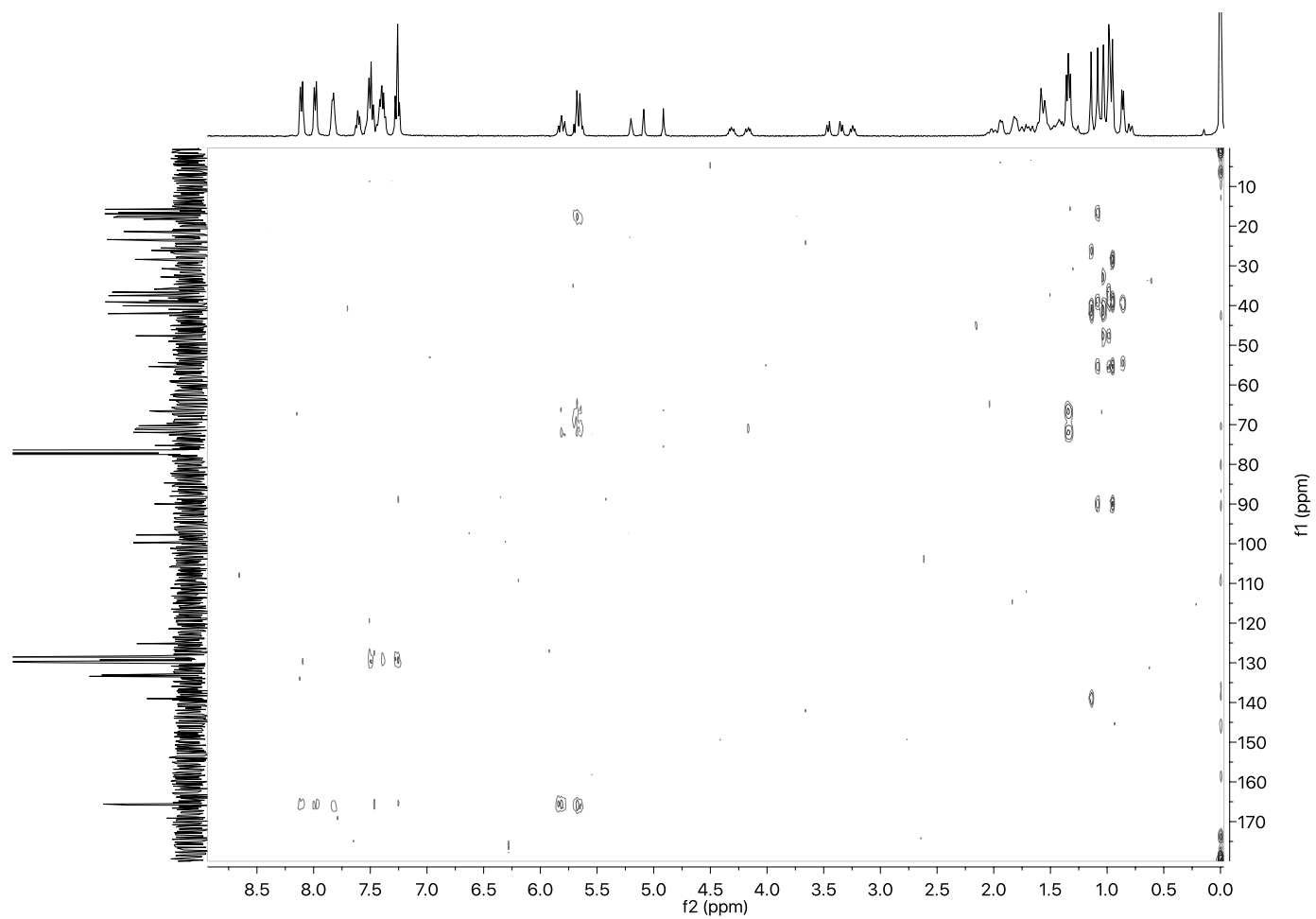


DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)

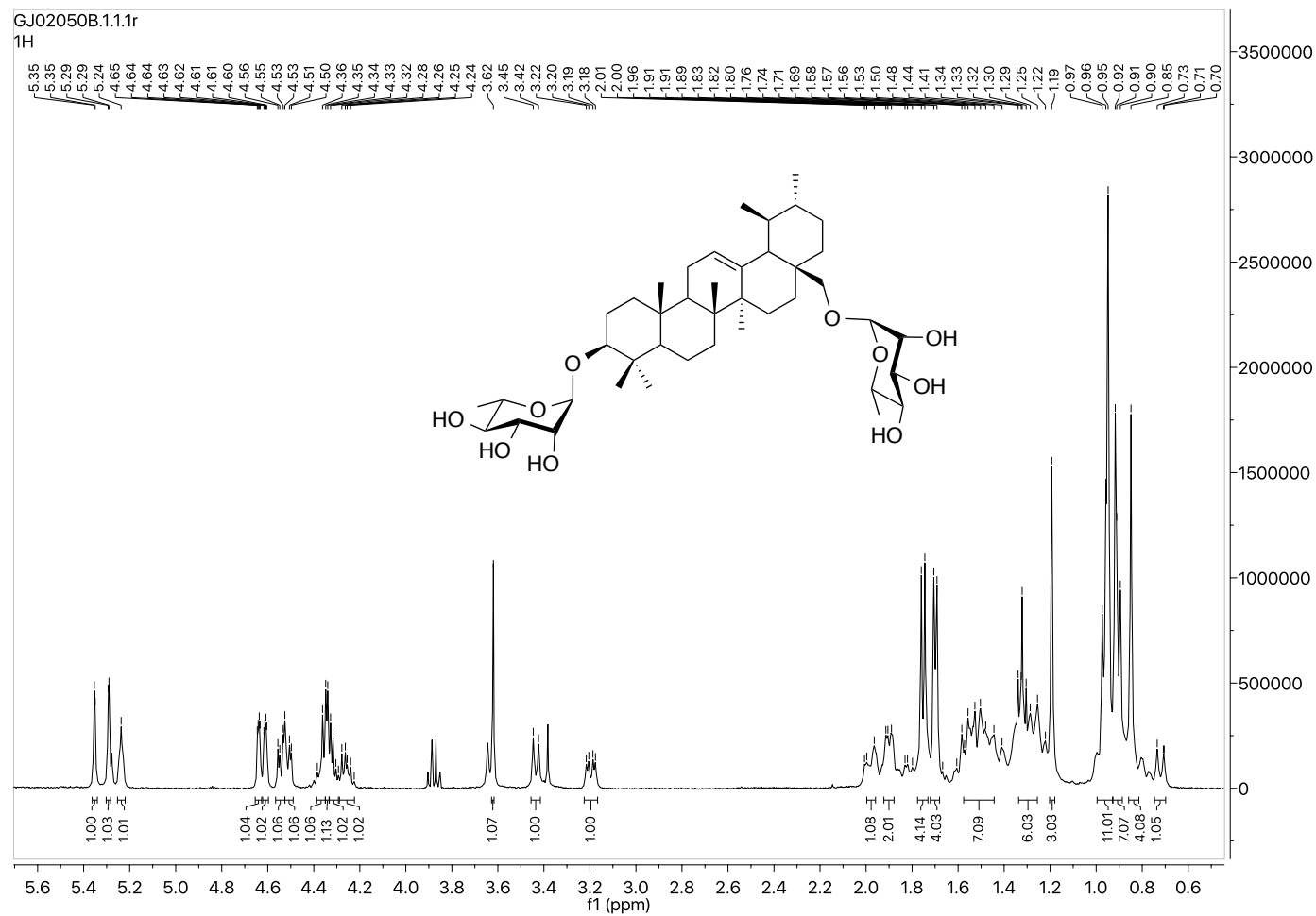


COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)

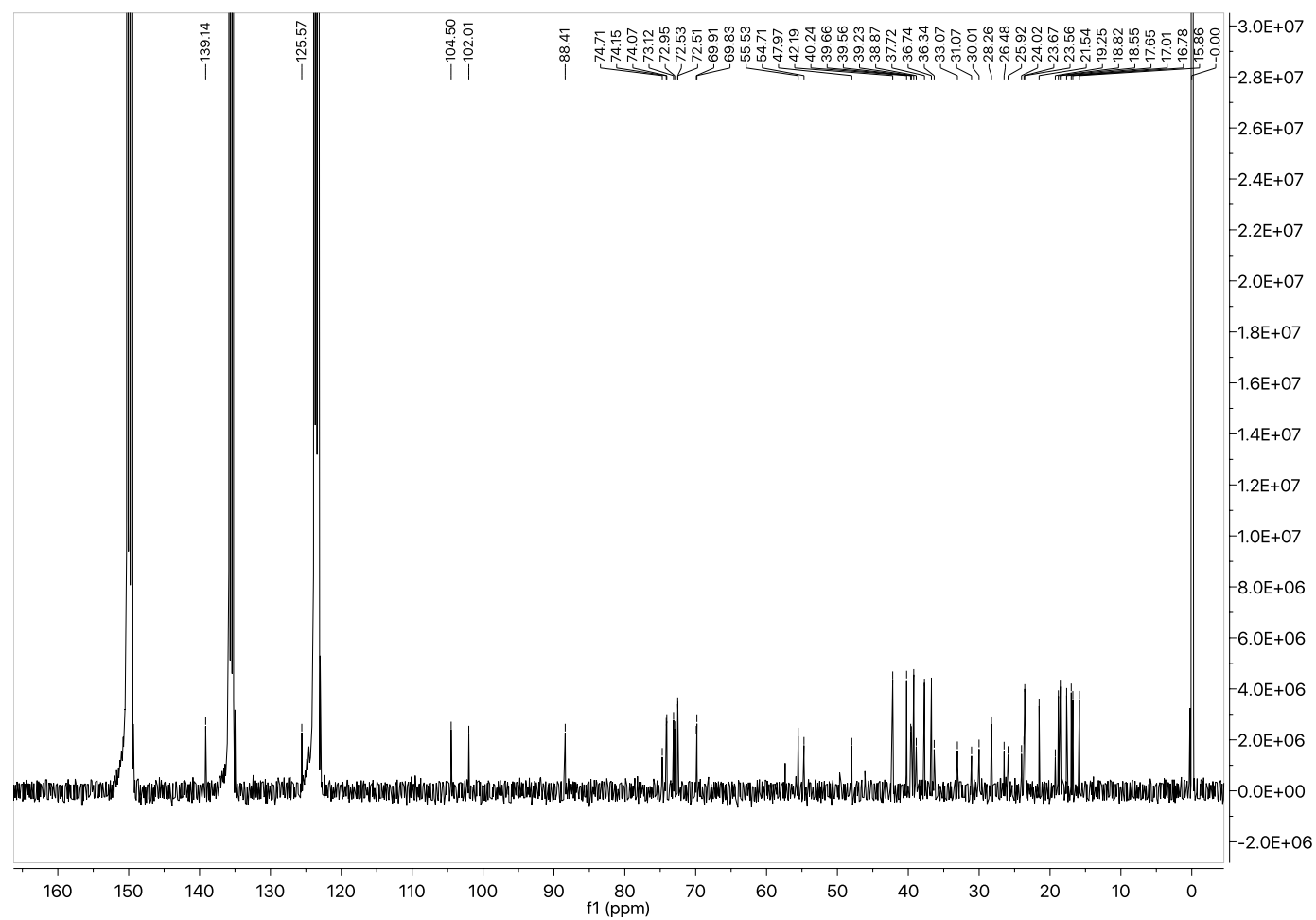
HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)



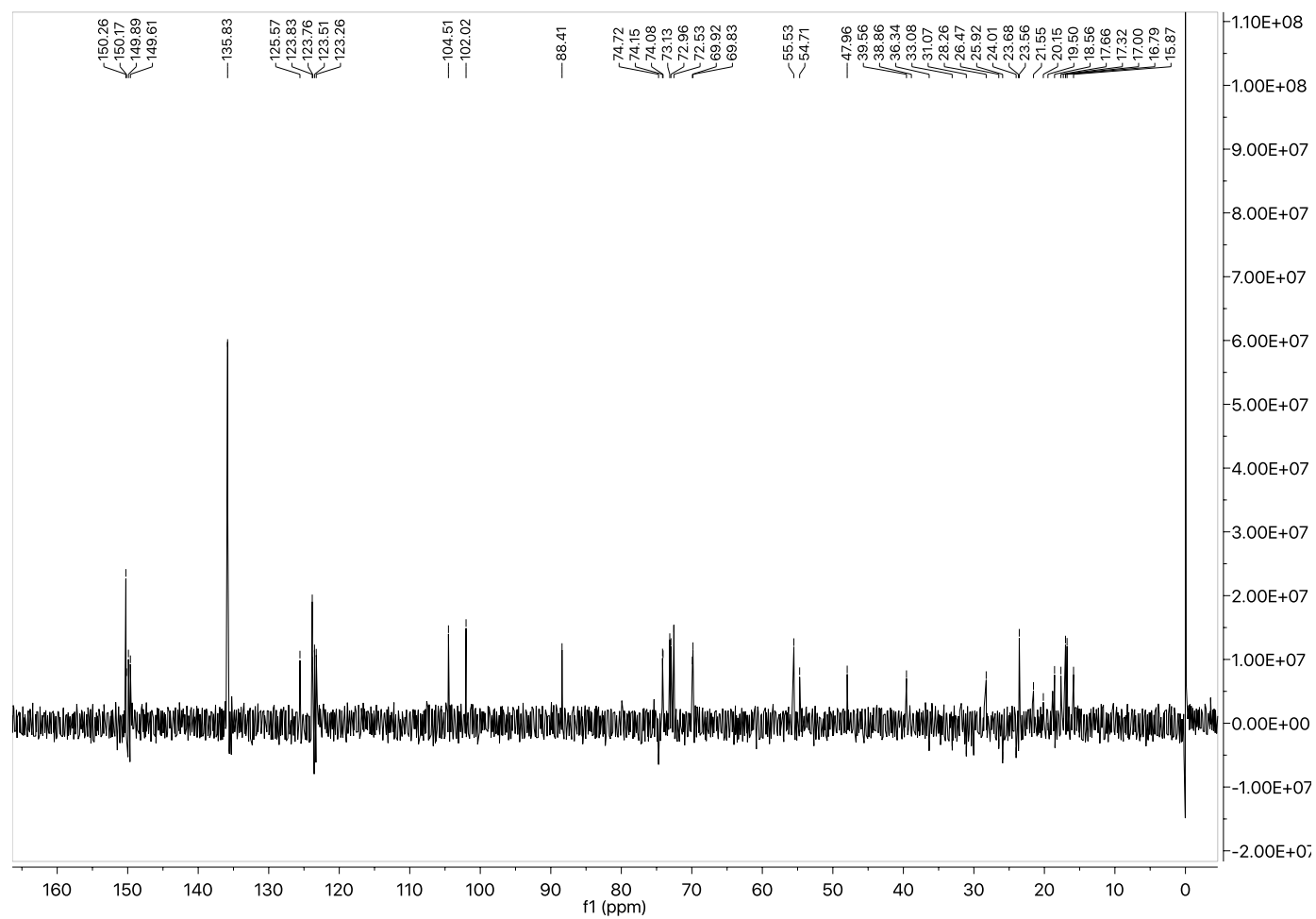
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl) uvaol (**39**)

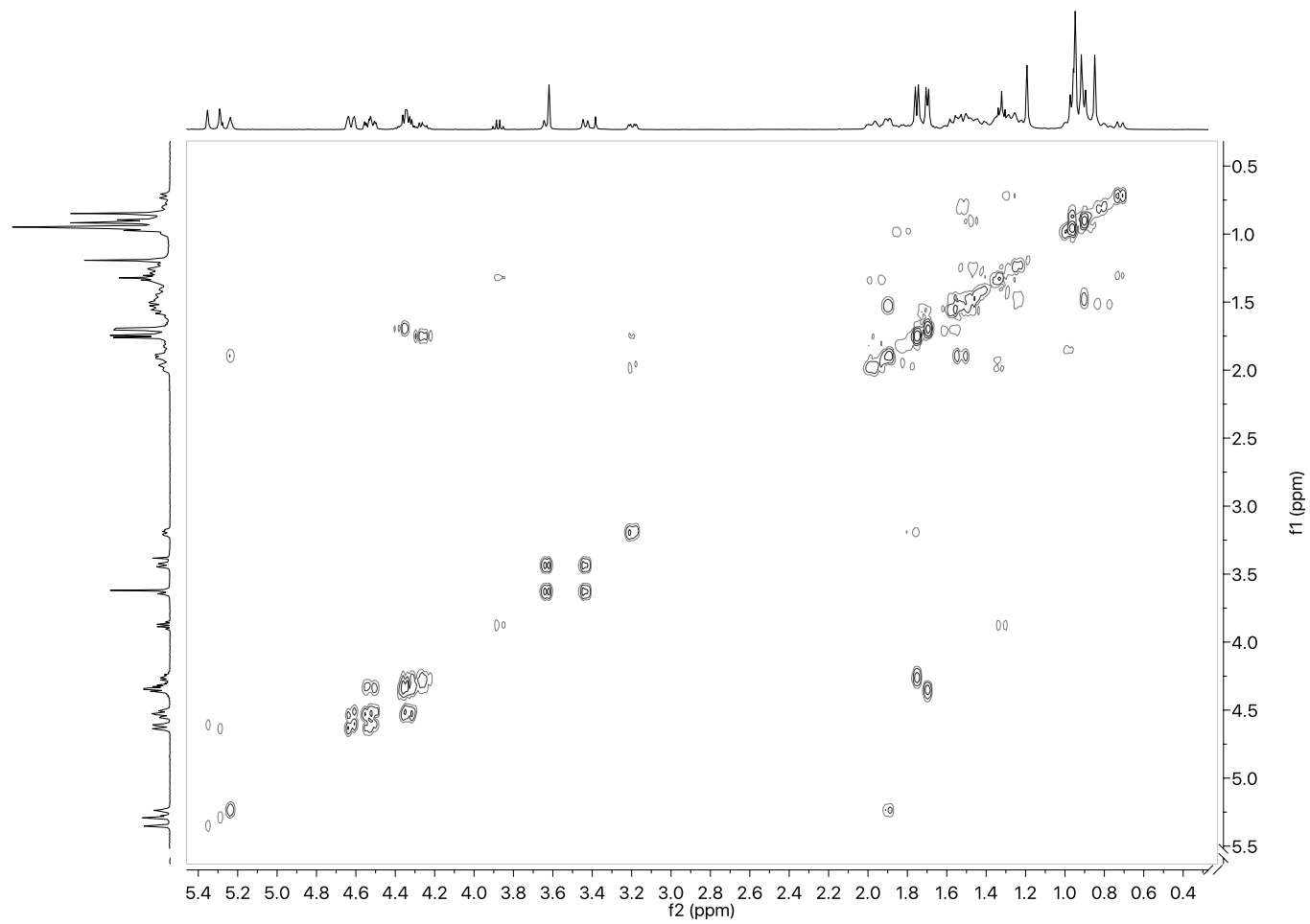
<sup>1</sup>H 3,28-di-O-α-L-rhamnopyranosyl uvaol (47)Pyridine-d<sub>5</sub>

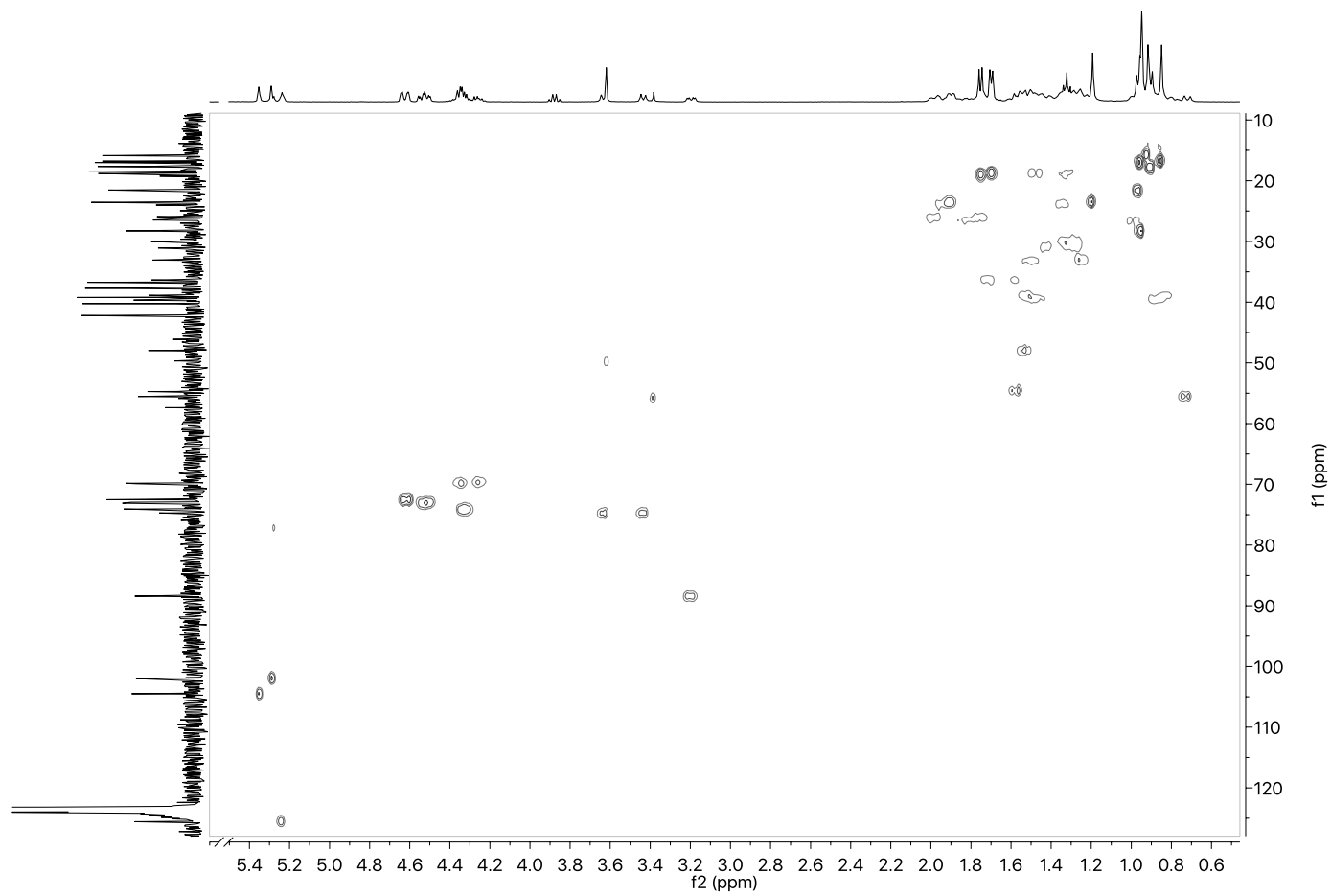




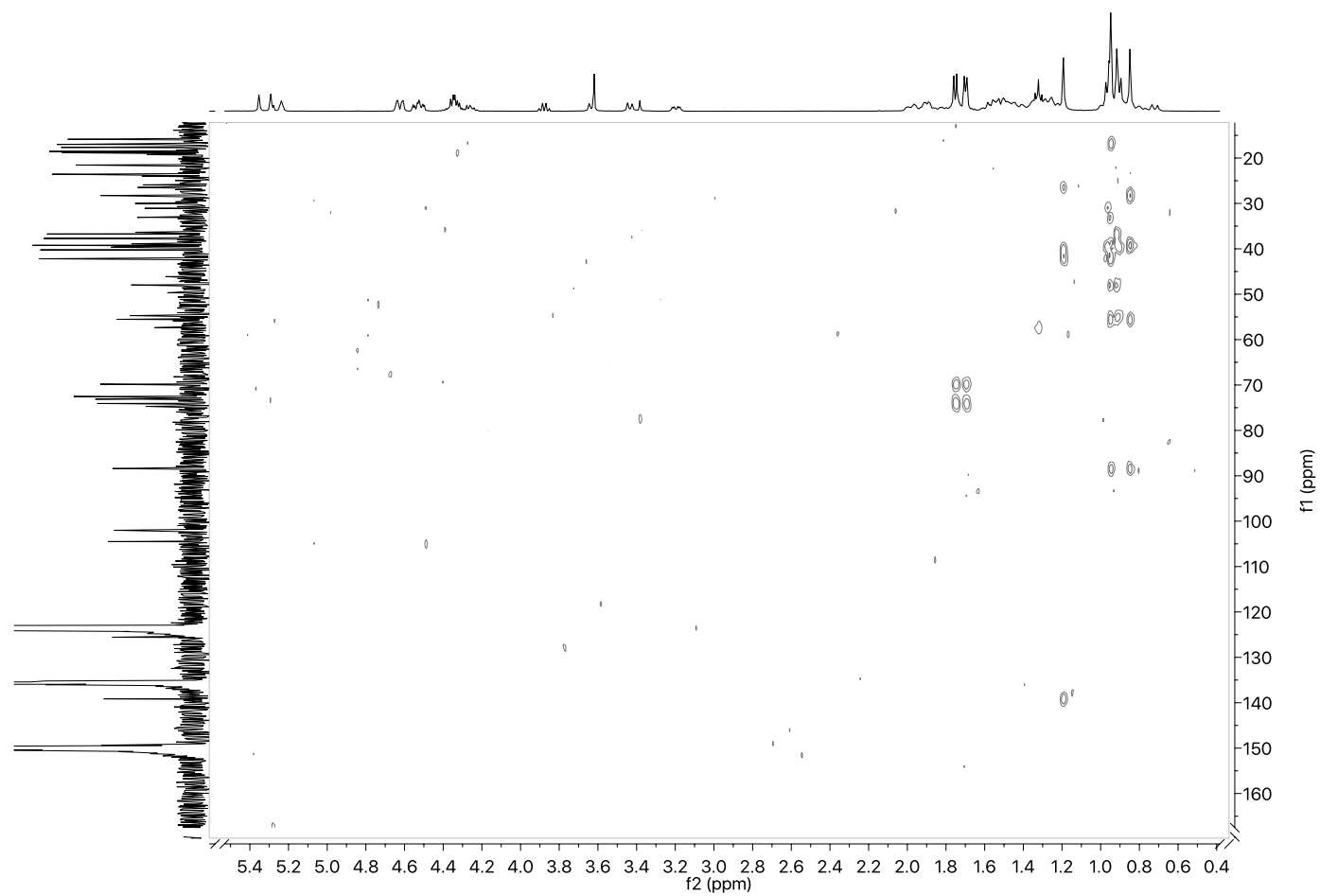
<sup>13</sup>C 3,28-di-O-α-L-rhamnopyranosyl uvaol (47)

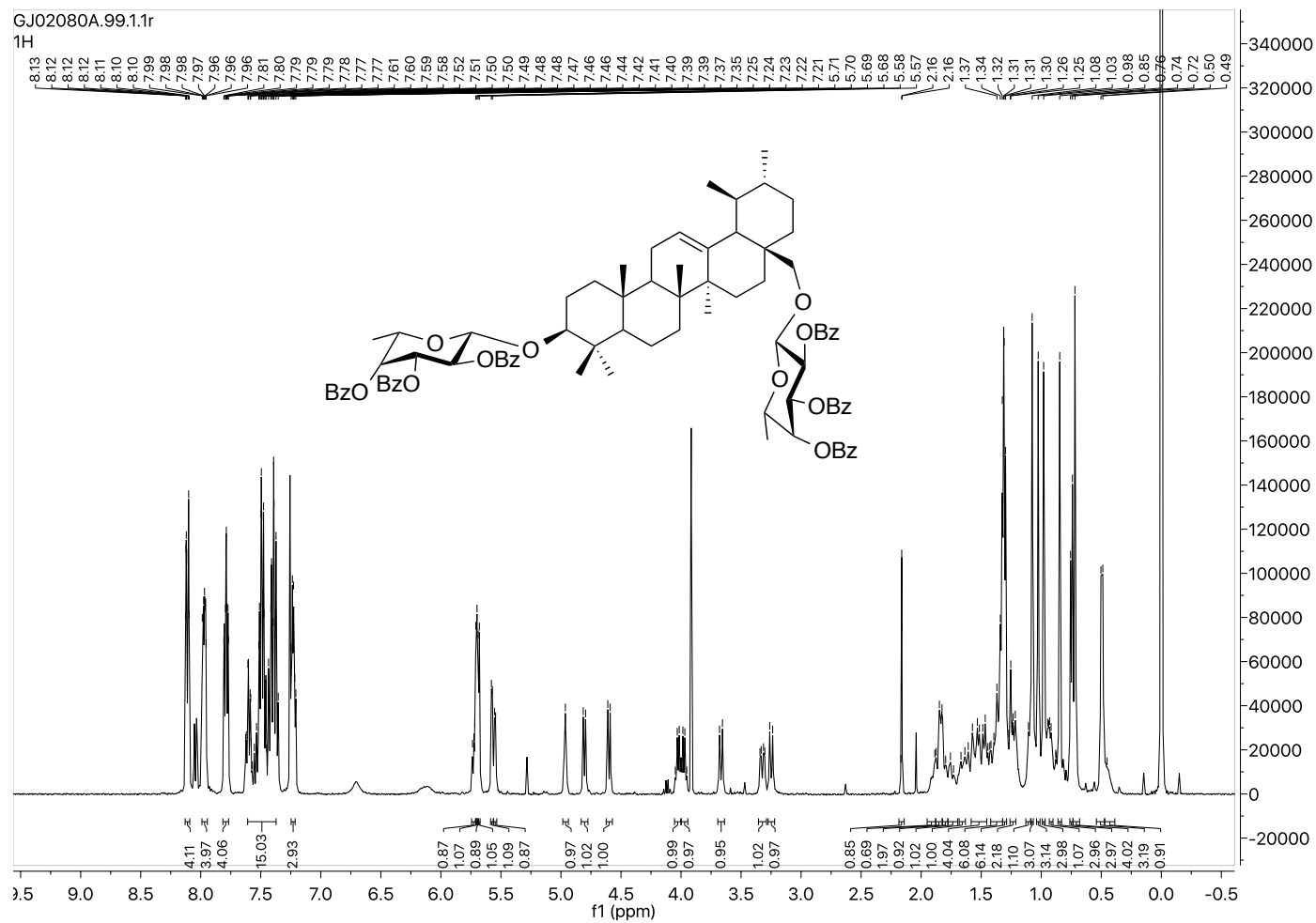
DEPT135 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**)

COSY 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**)



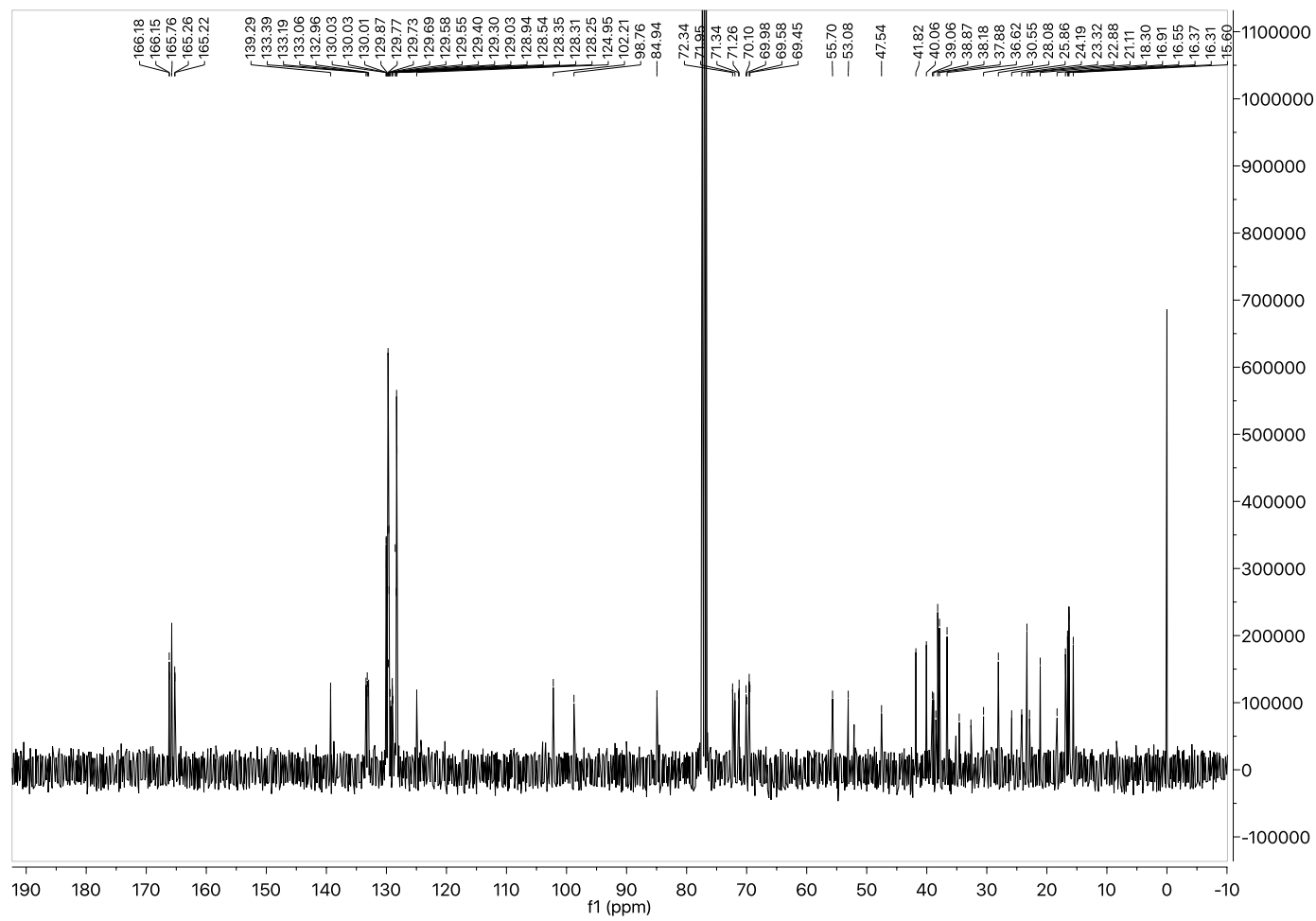
HSQC 3,28-di-*O*-α-L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**)

HMBC 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-rhamnopyranosyl uvaol (**47**)

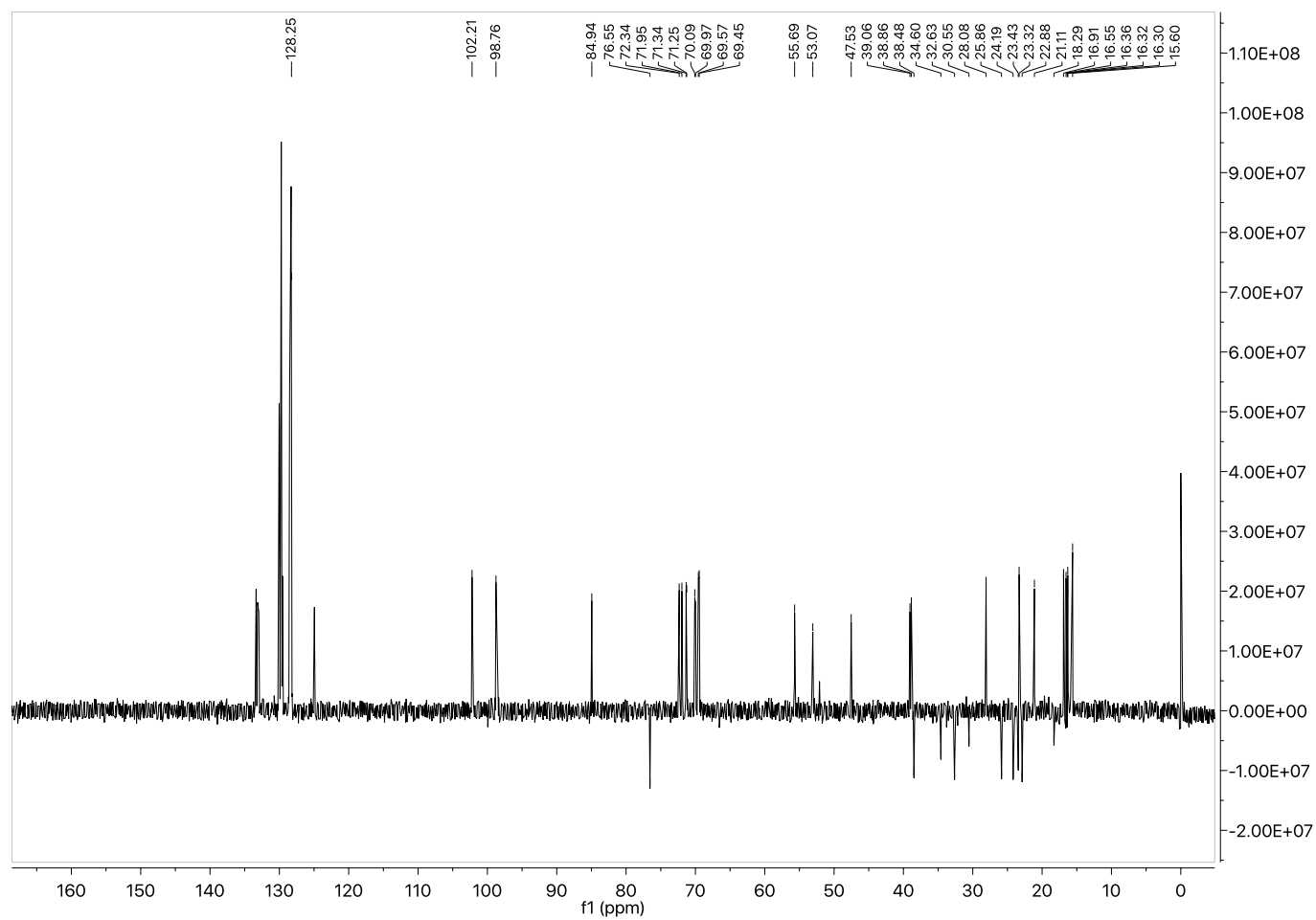


<sup>1</sup>H 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl) uvaol (40)

Chloroform-d

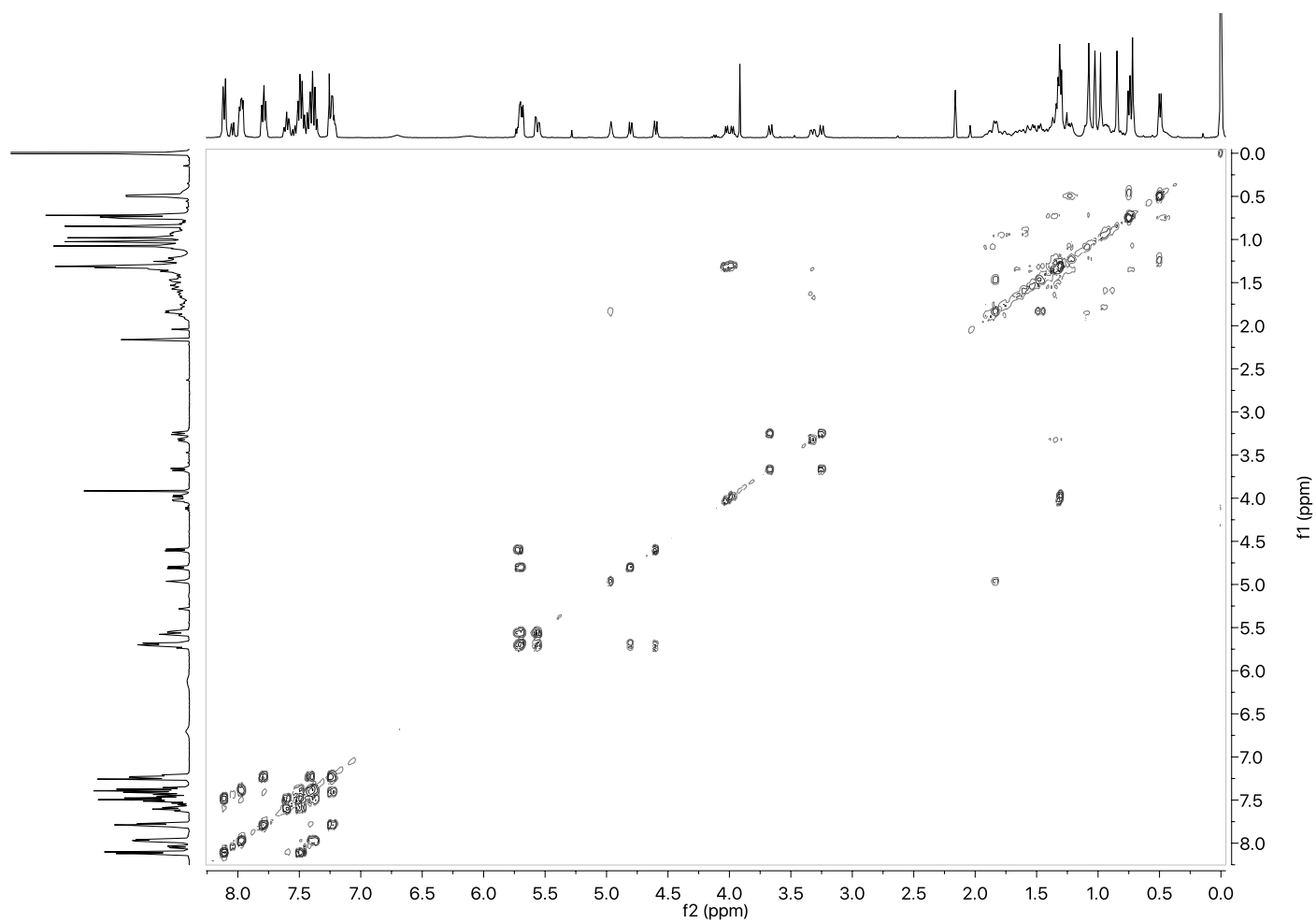


<sup>13</sup>C 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

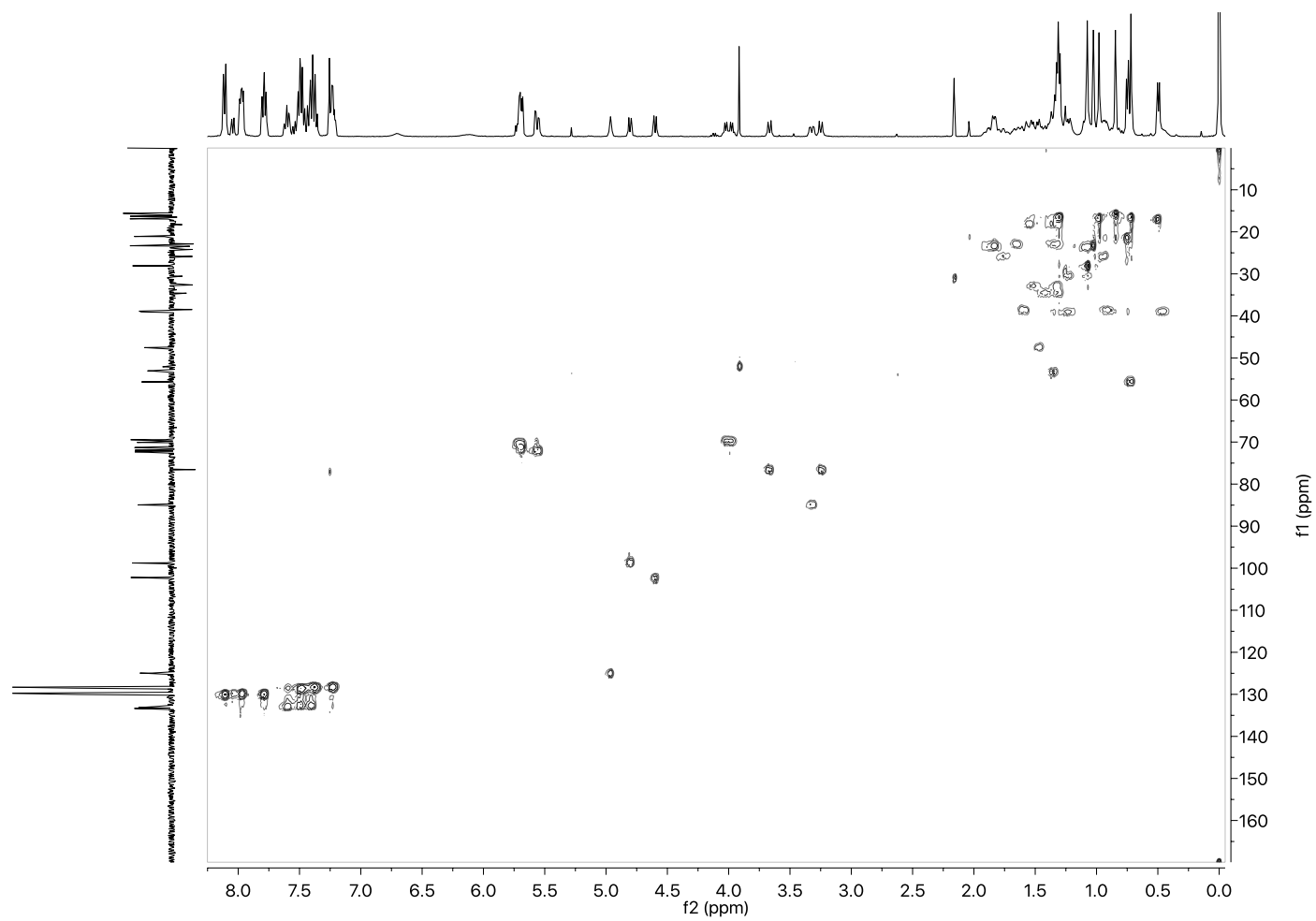


DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

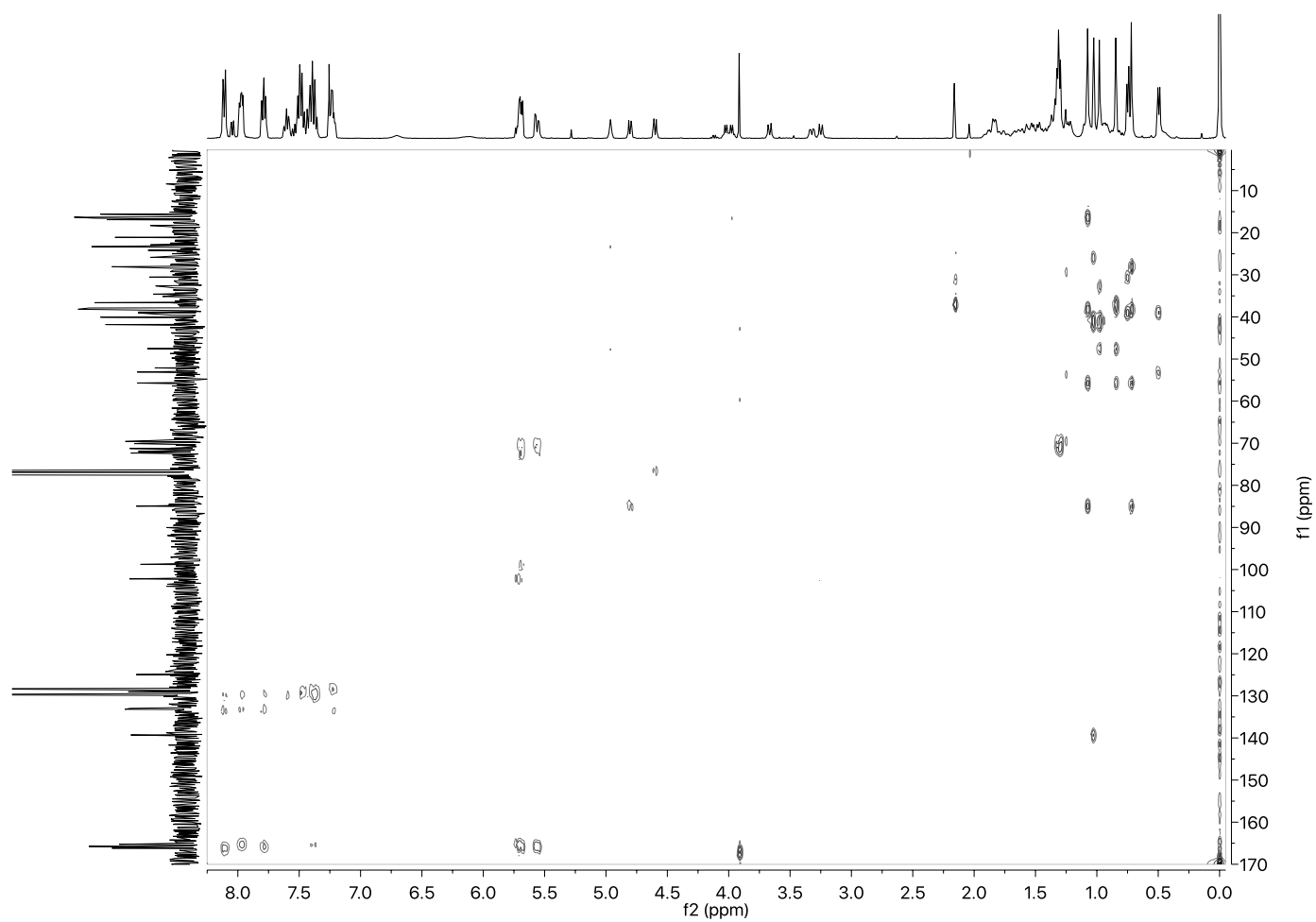




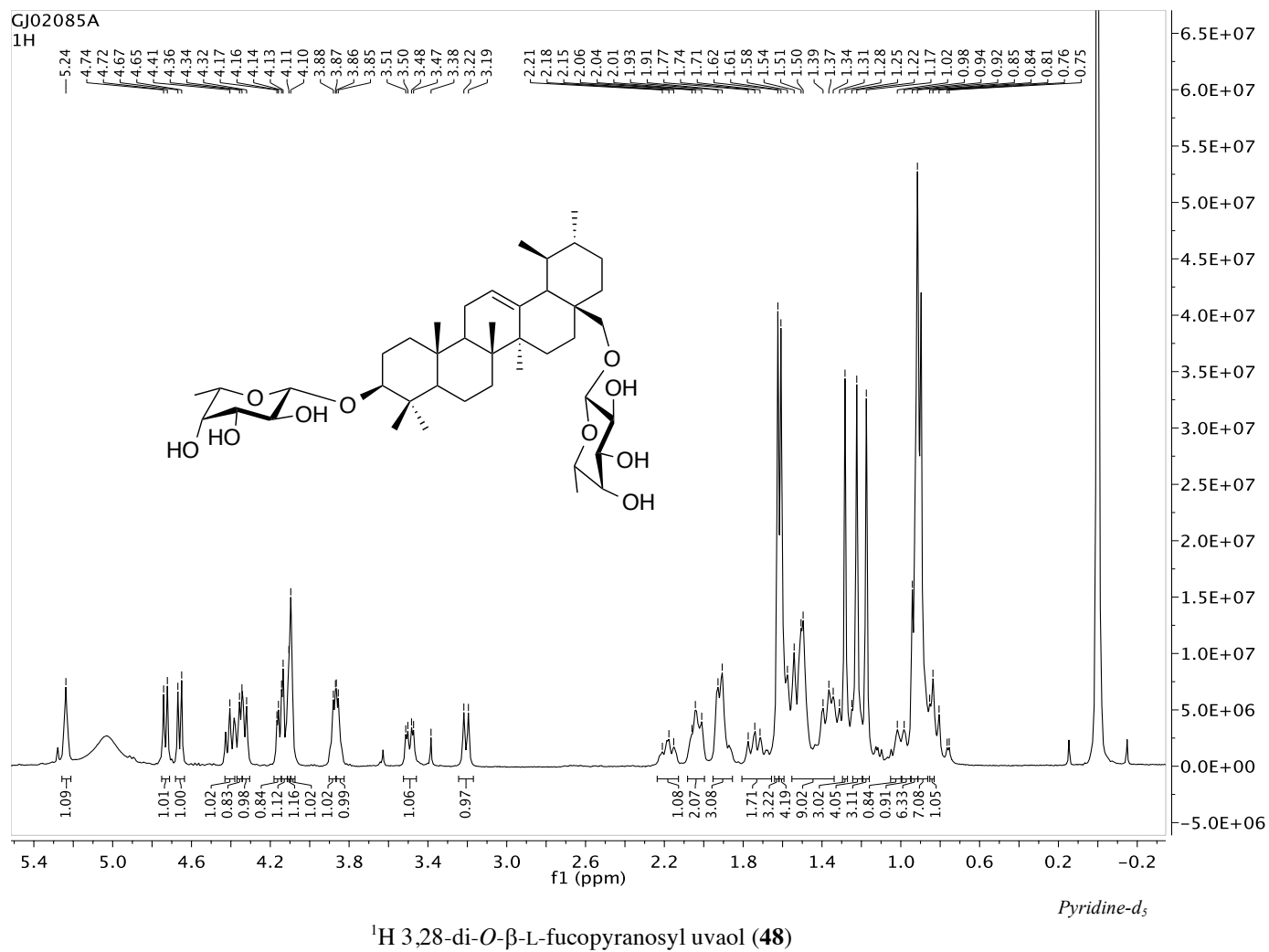
COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

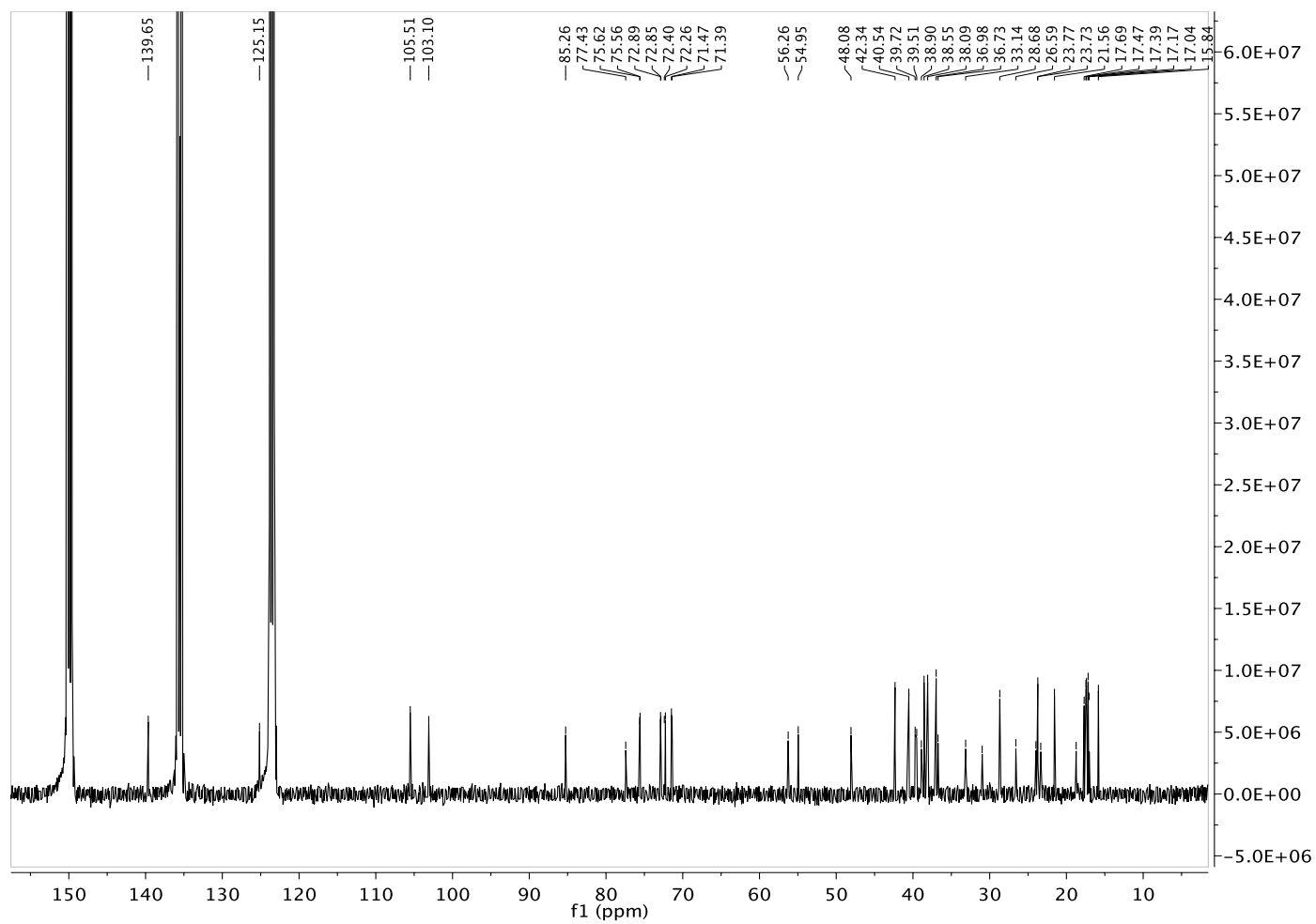


HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

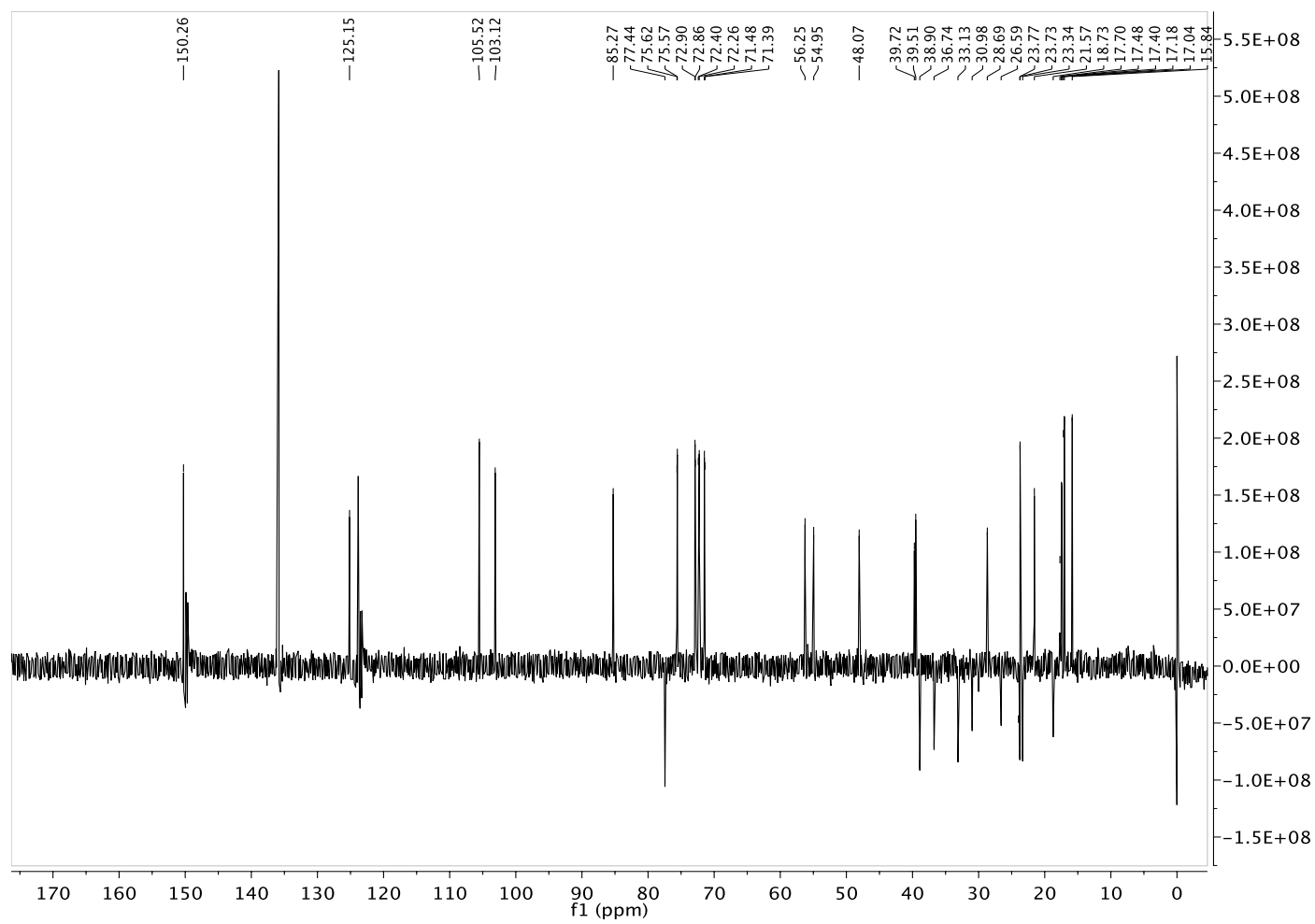


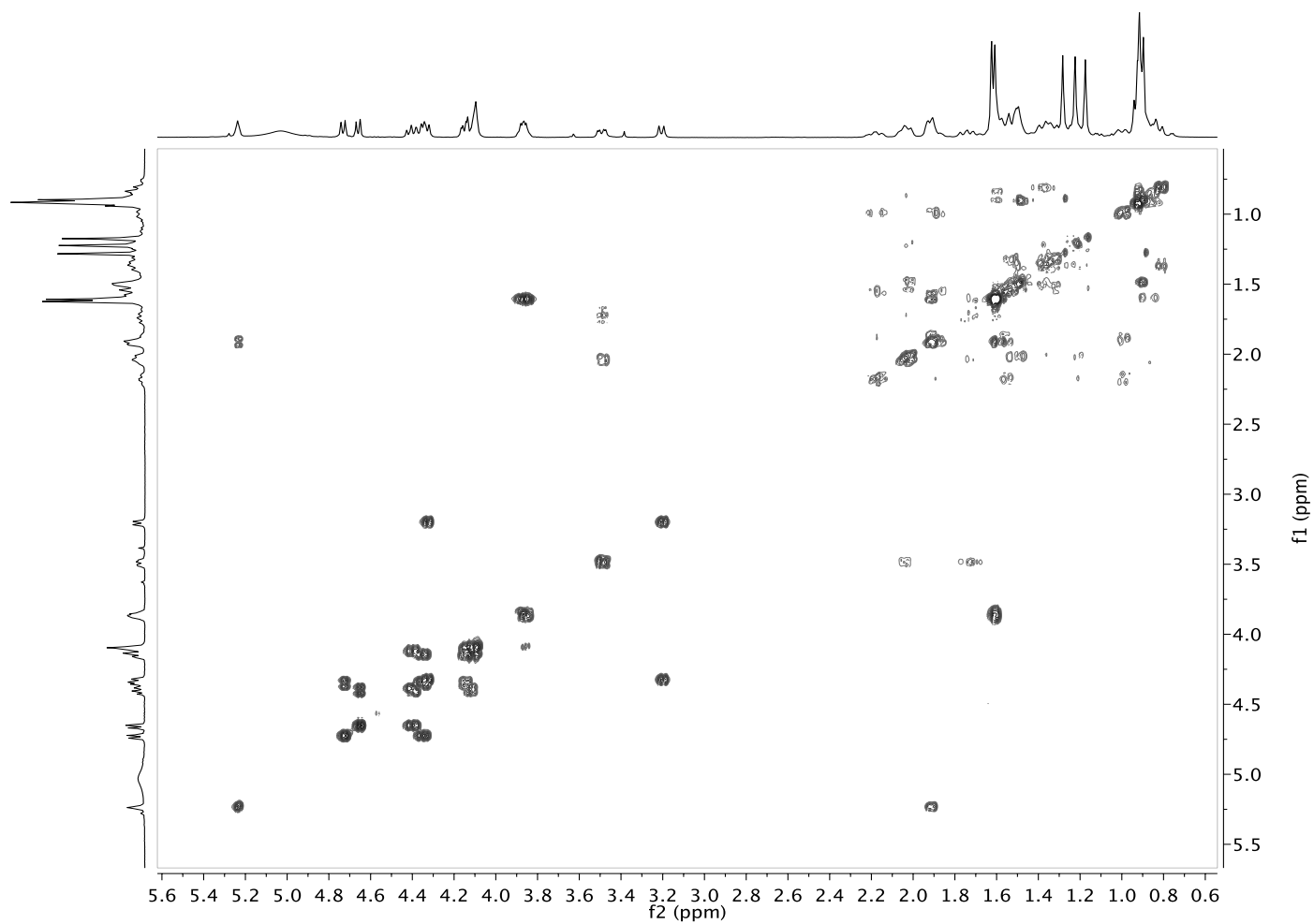
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -L-fucopyranosyl) uvaol (**40**)

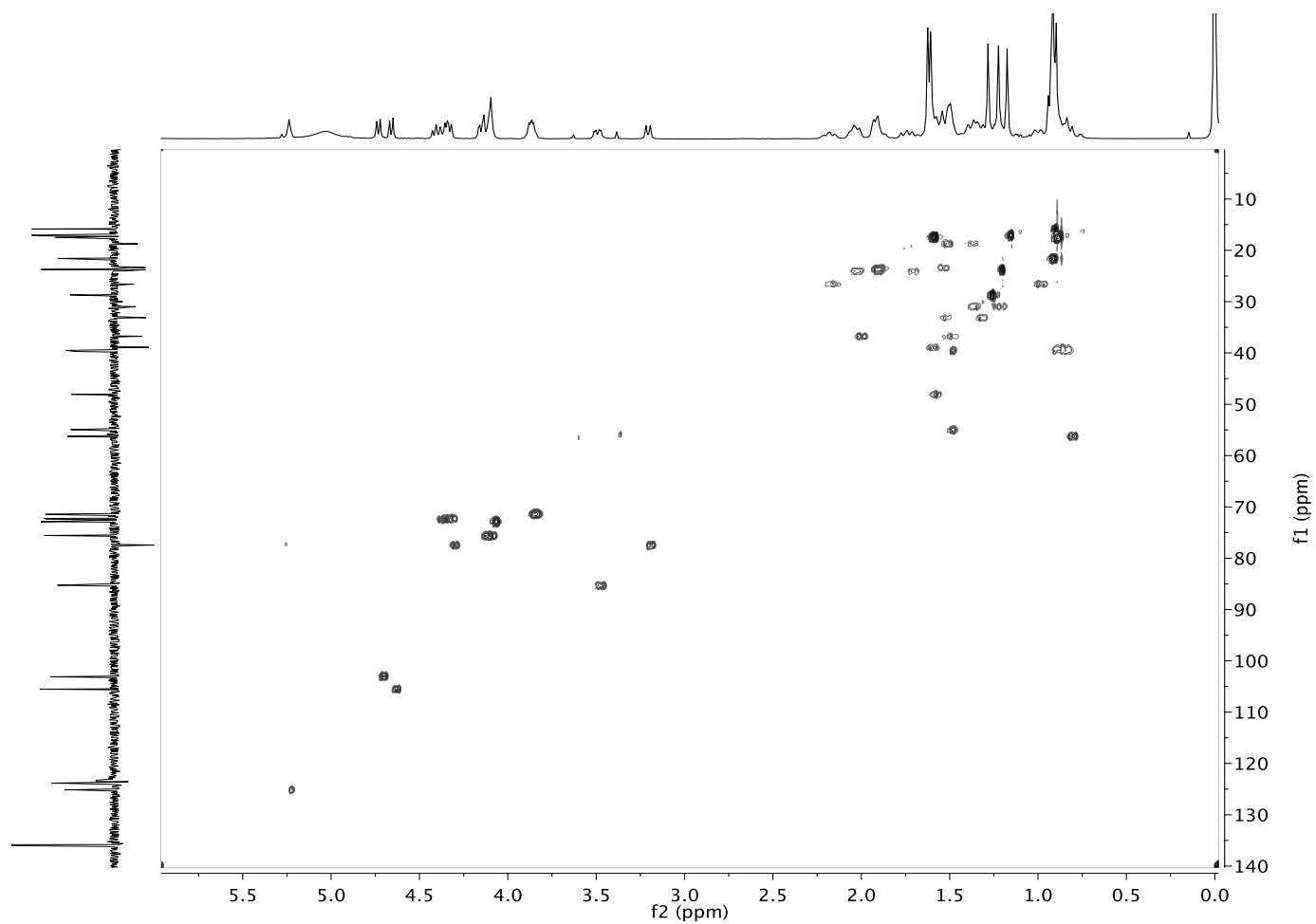




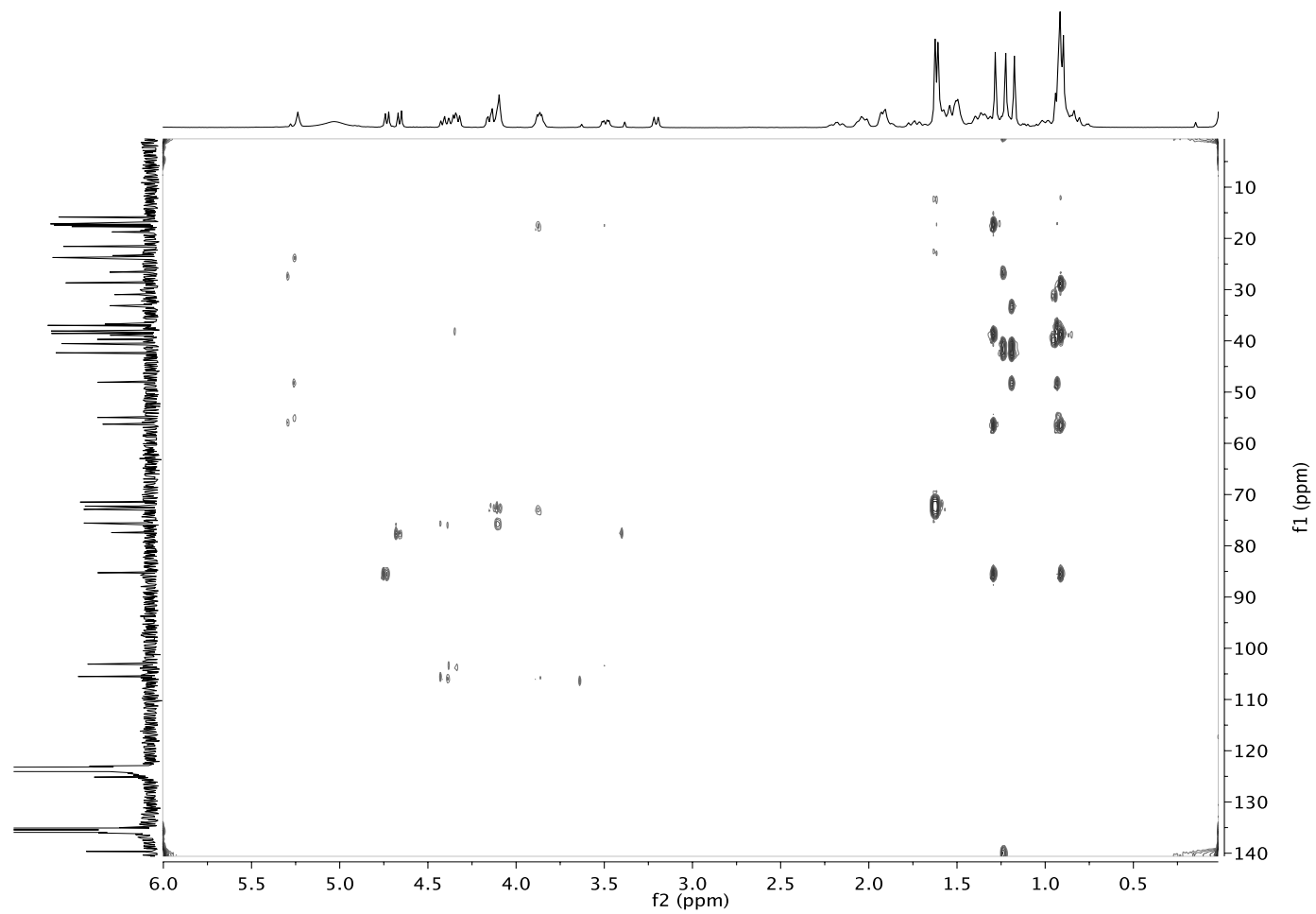
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*- $\beta$ -L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

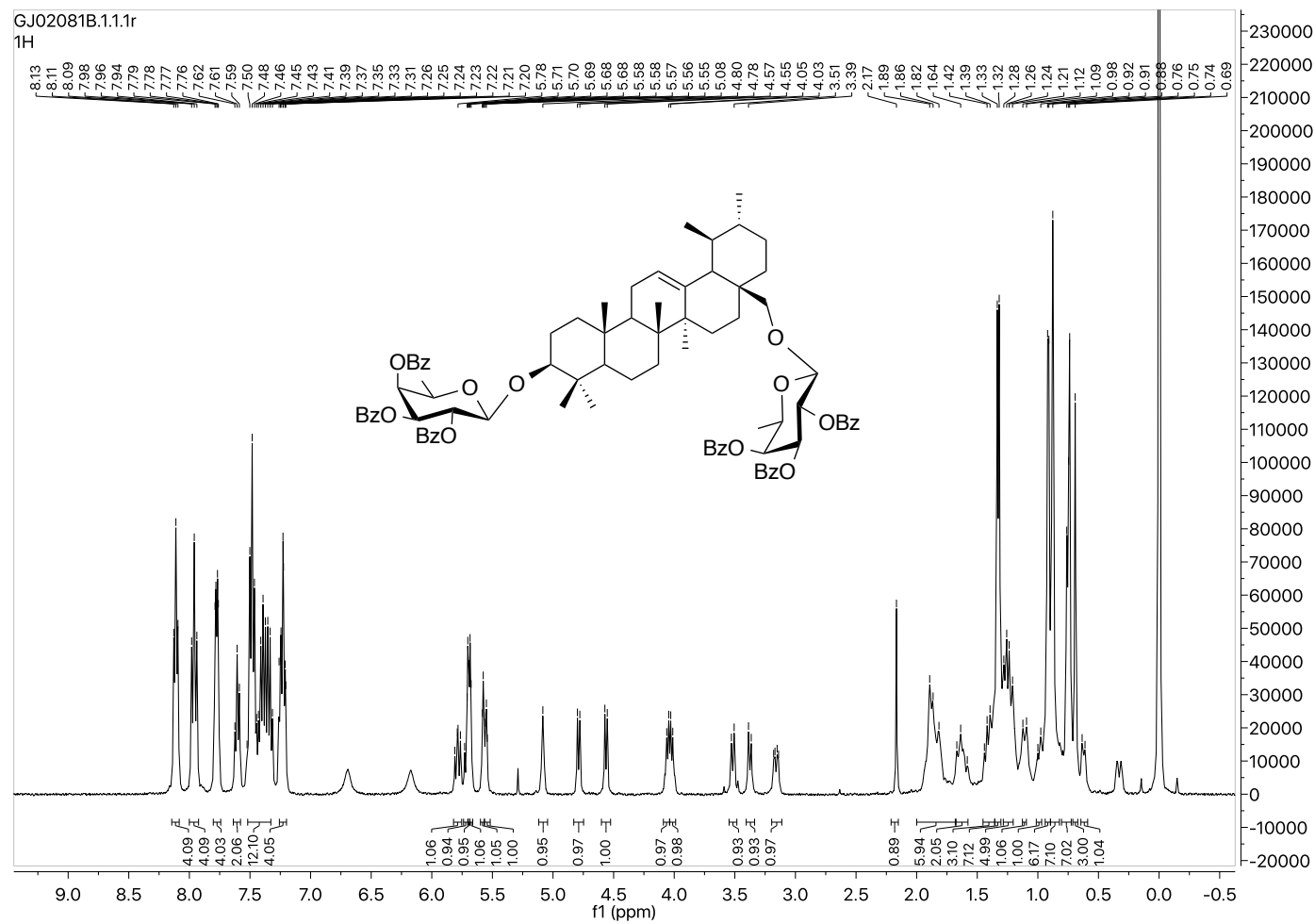
DEPT135 3,28-di-*O*- $\beta$ -L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

COSY 3,28-di-*O*-β-L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

HSQC 3,28-di-*O*-β-L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

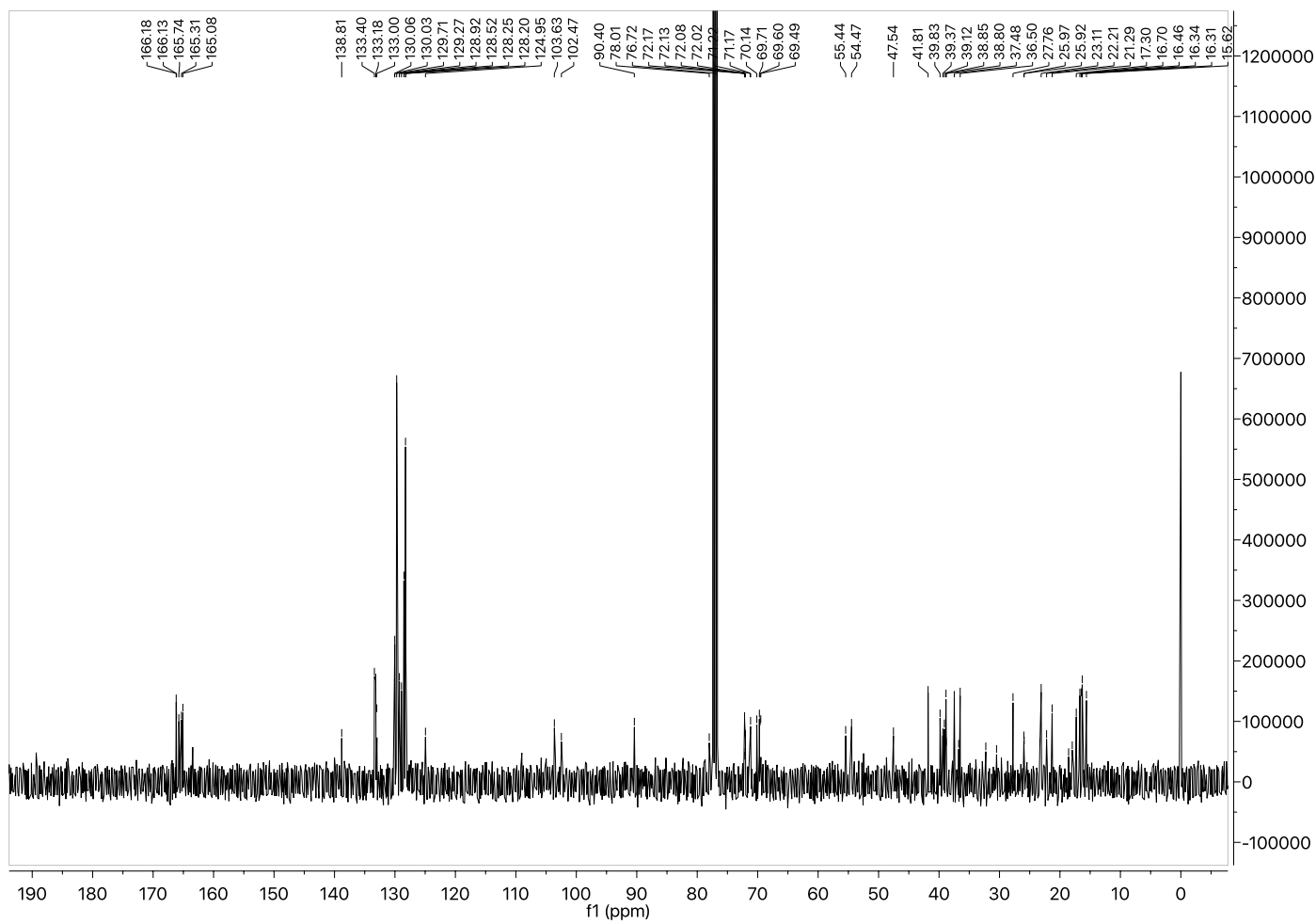


HMBC 3,28-di-*O*-β-L-fucopyranosyl uvaol (**48**)

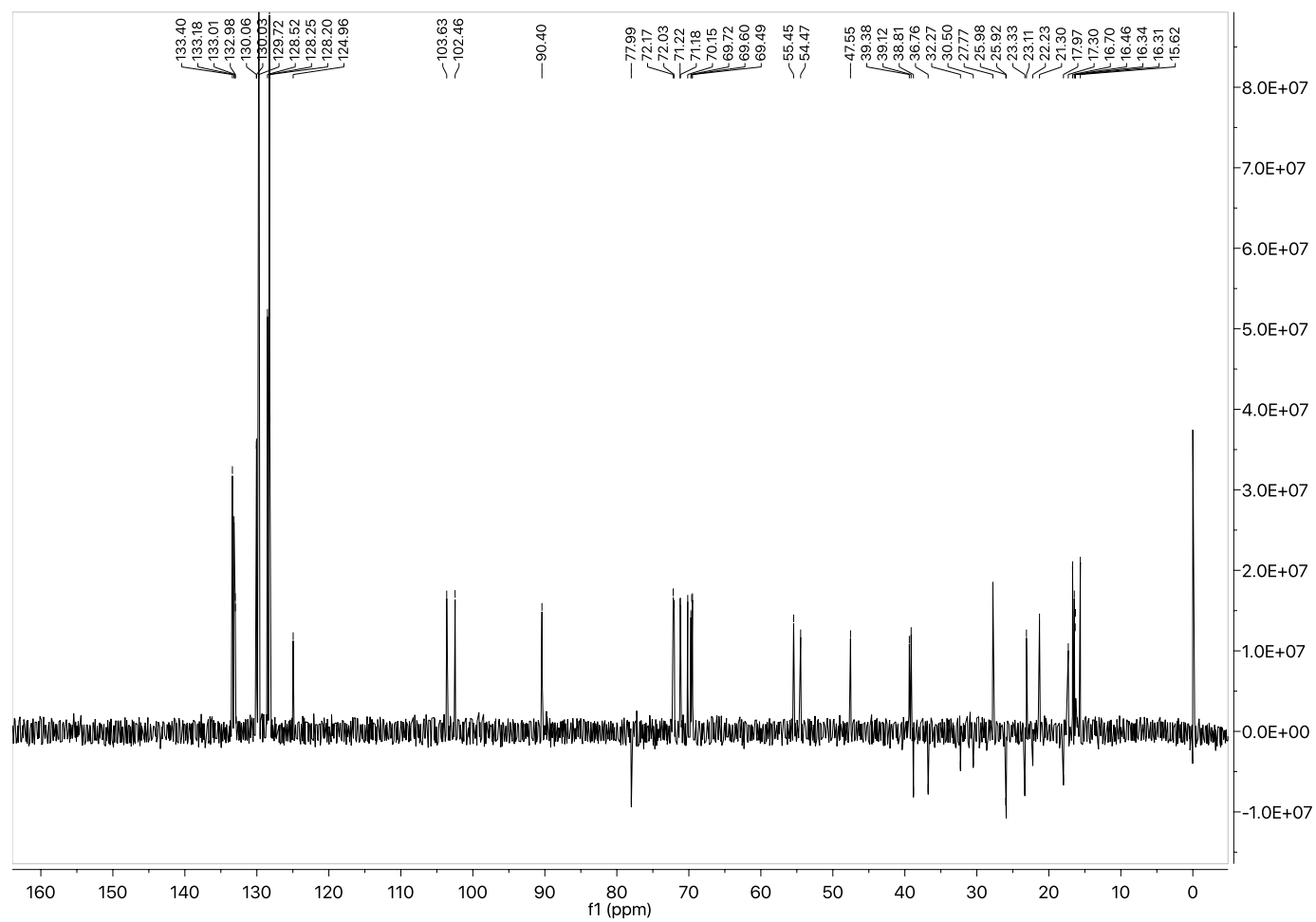


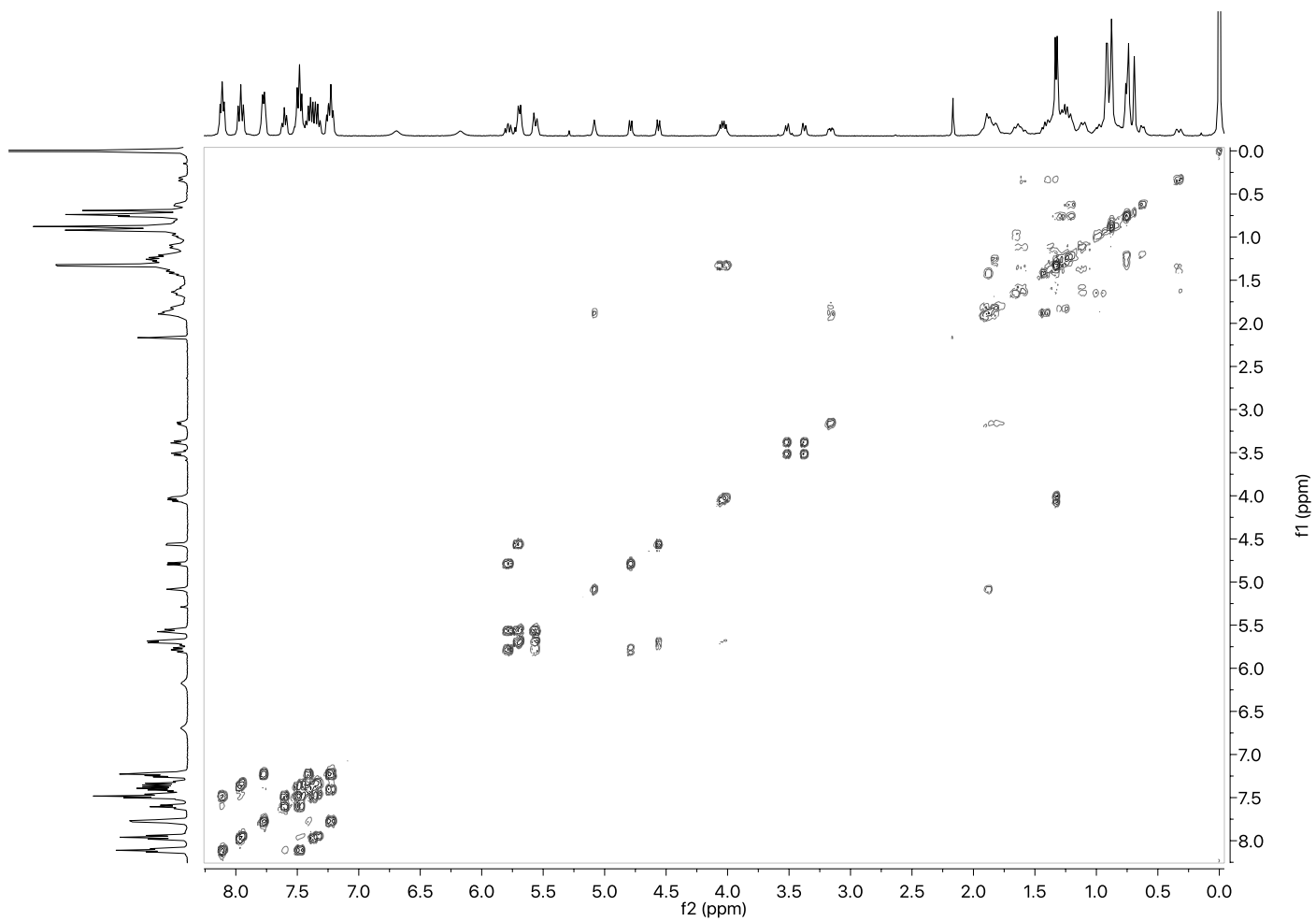
$^1\text{H}$  3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)

*Chloroform-d*

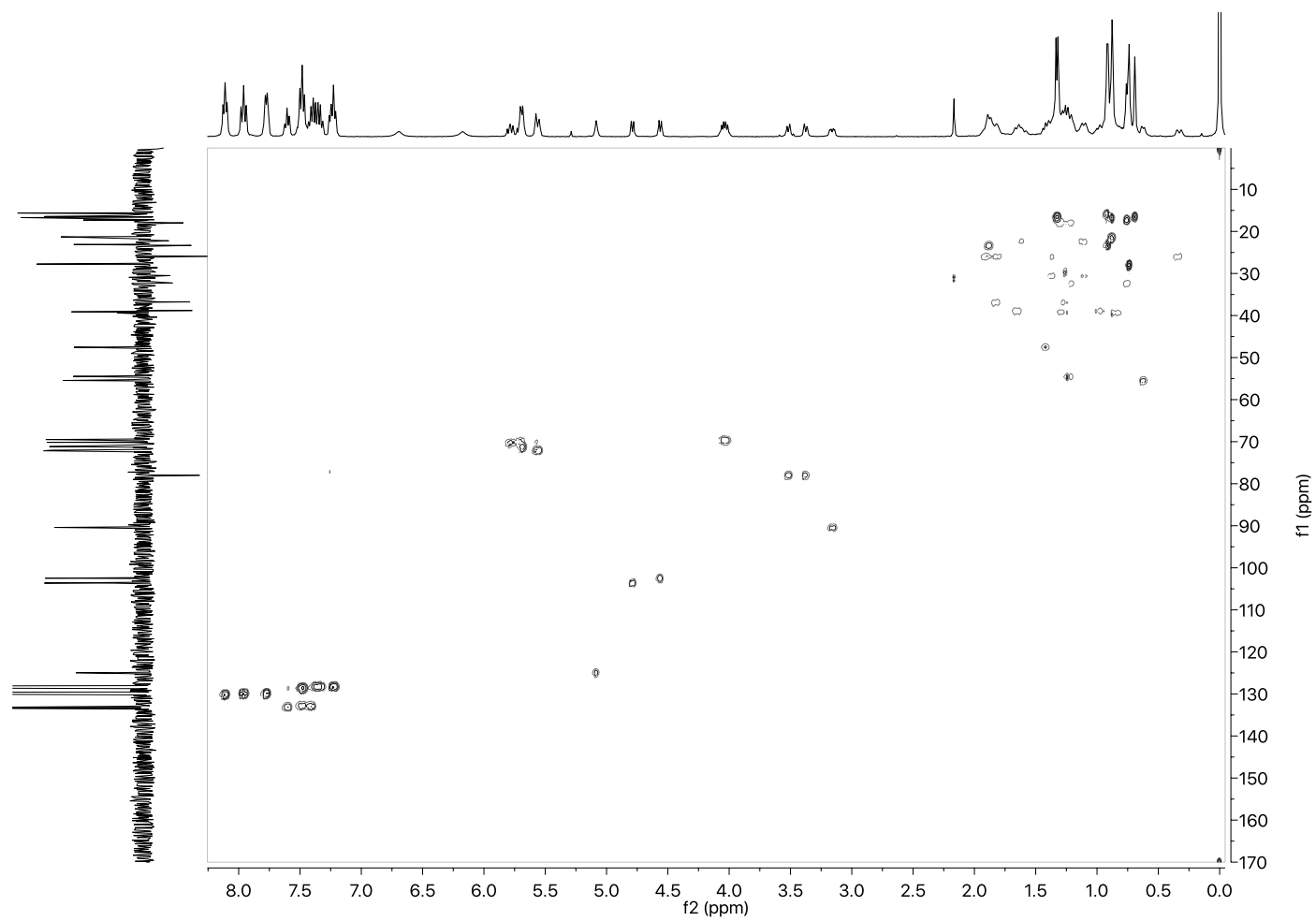


<sup>13</sup>C 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)

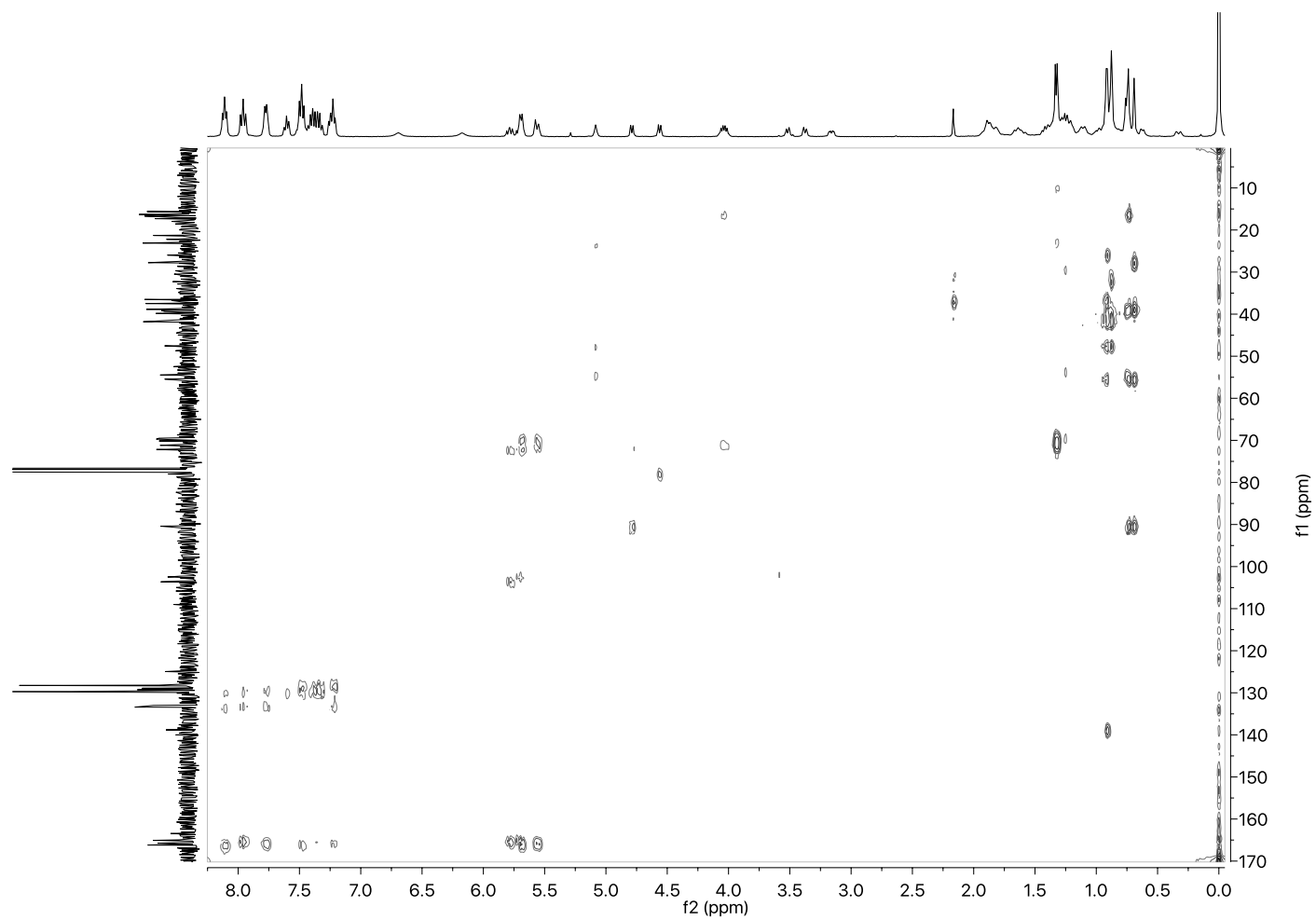
DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)



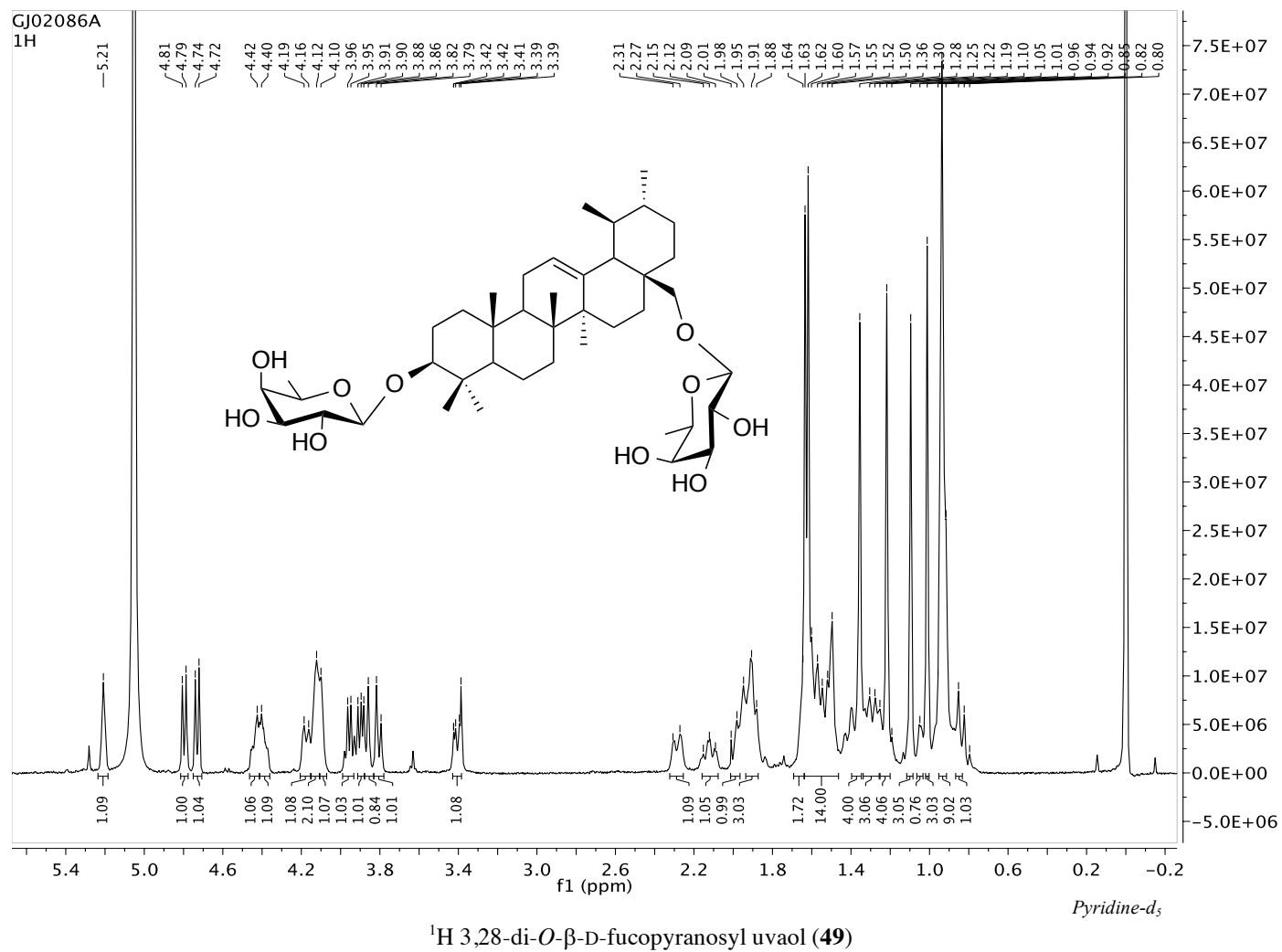
COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)



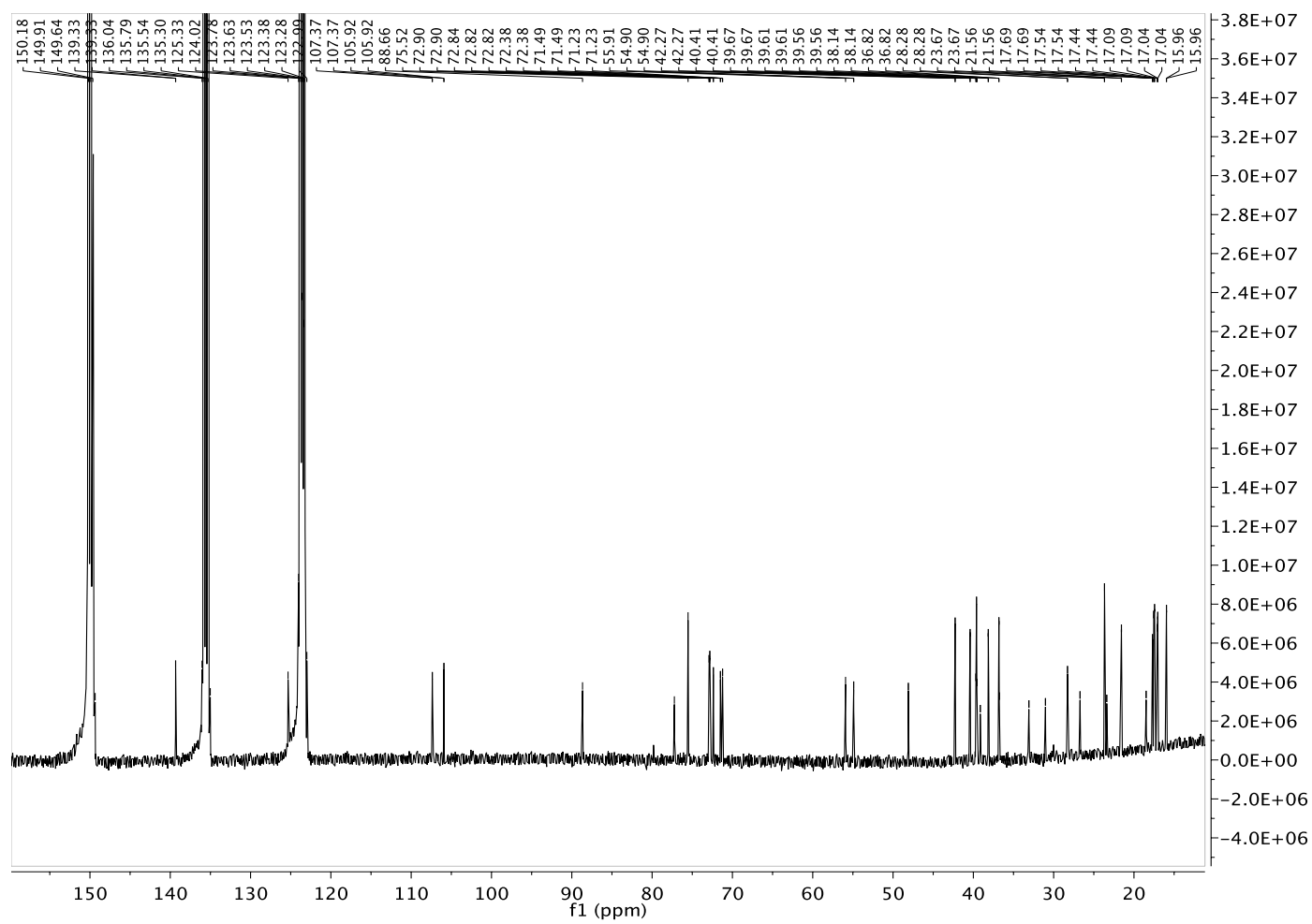
HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)



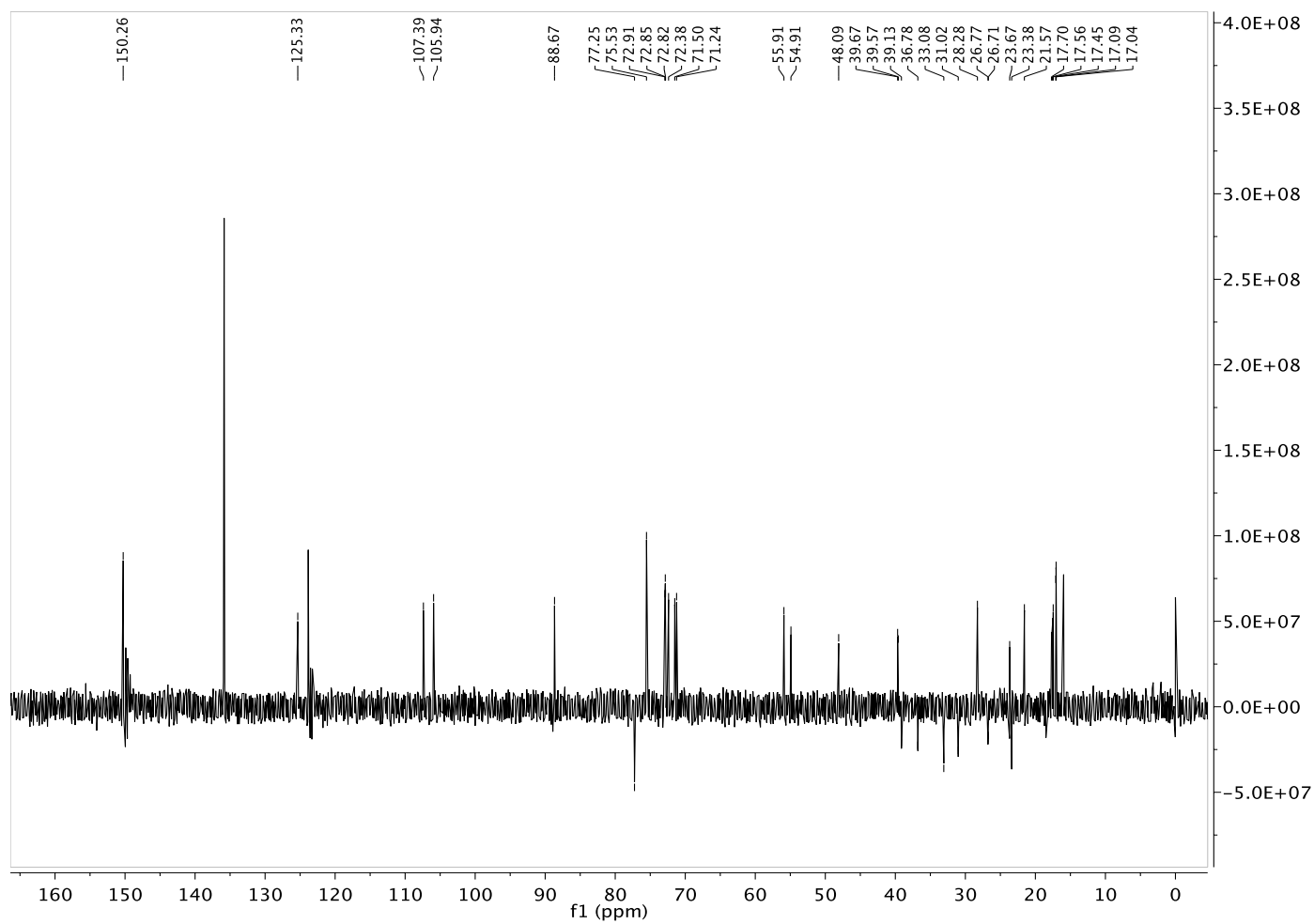
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-fucopyranosyl) uvaol (**41**)

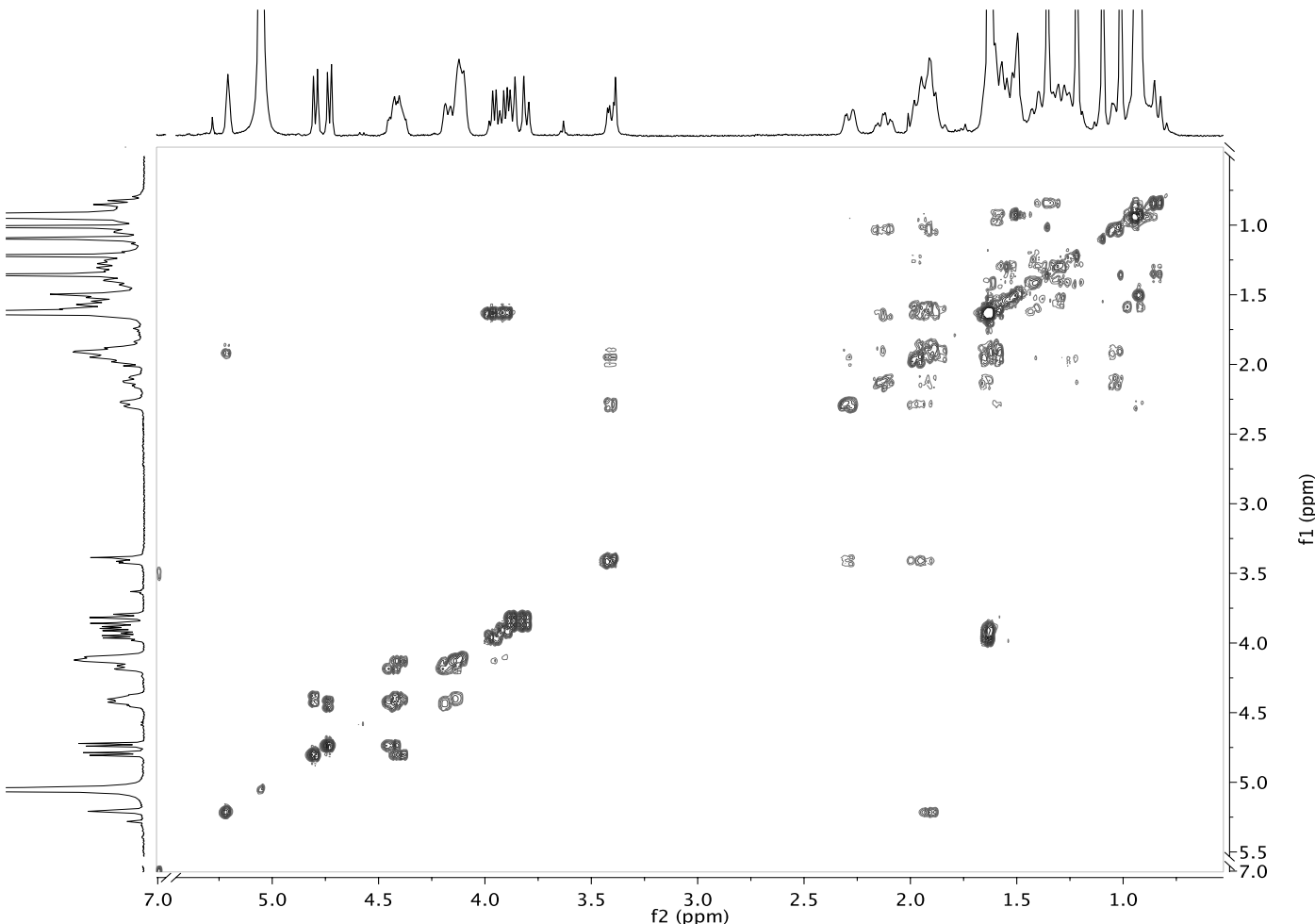




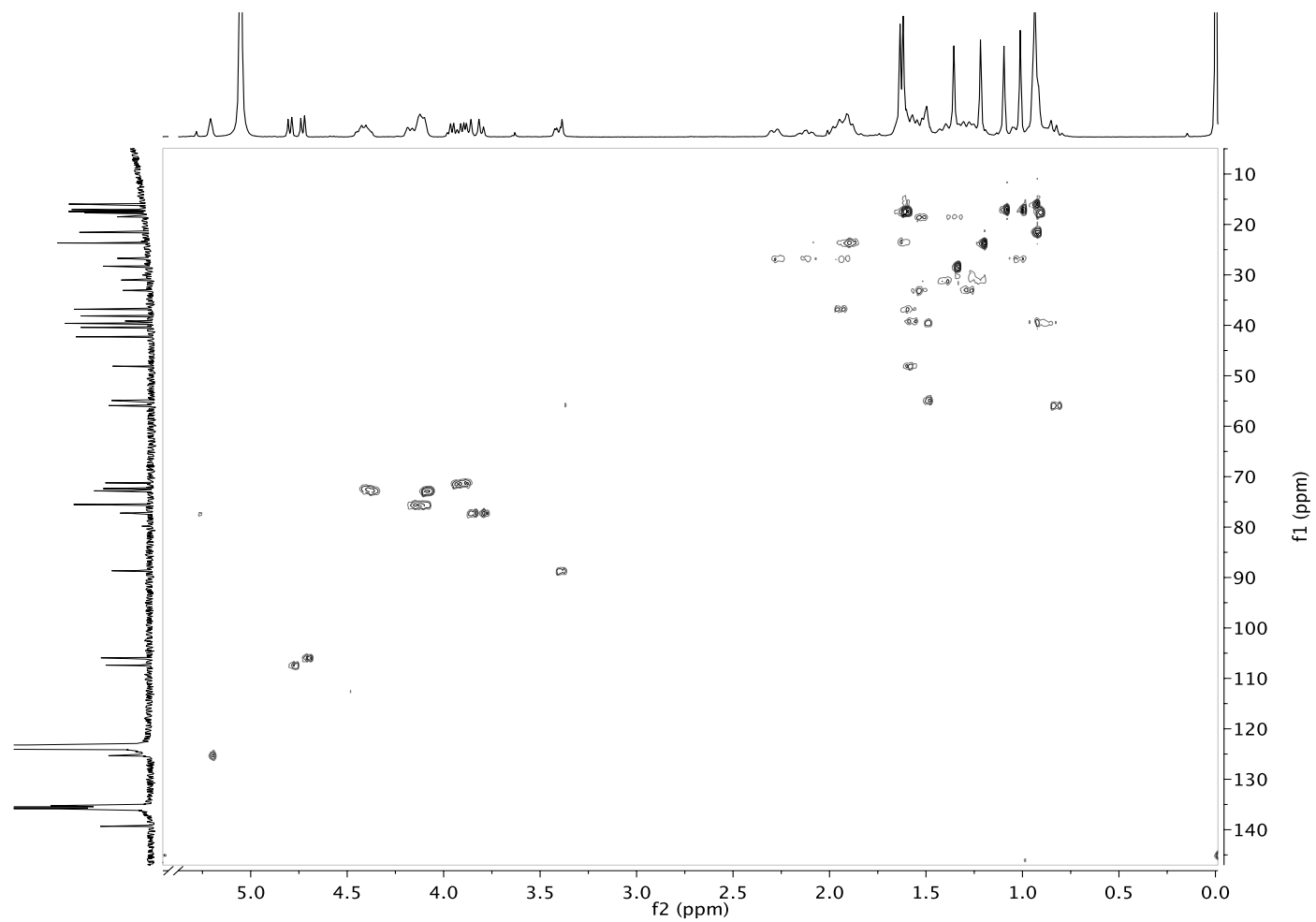


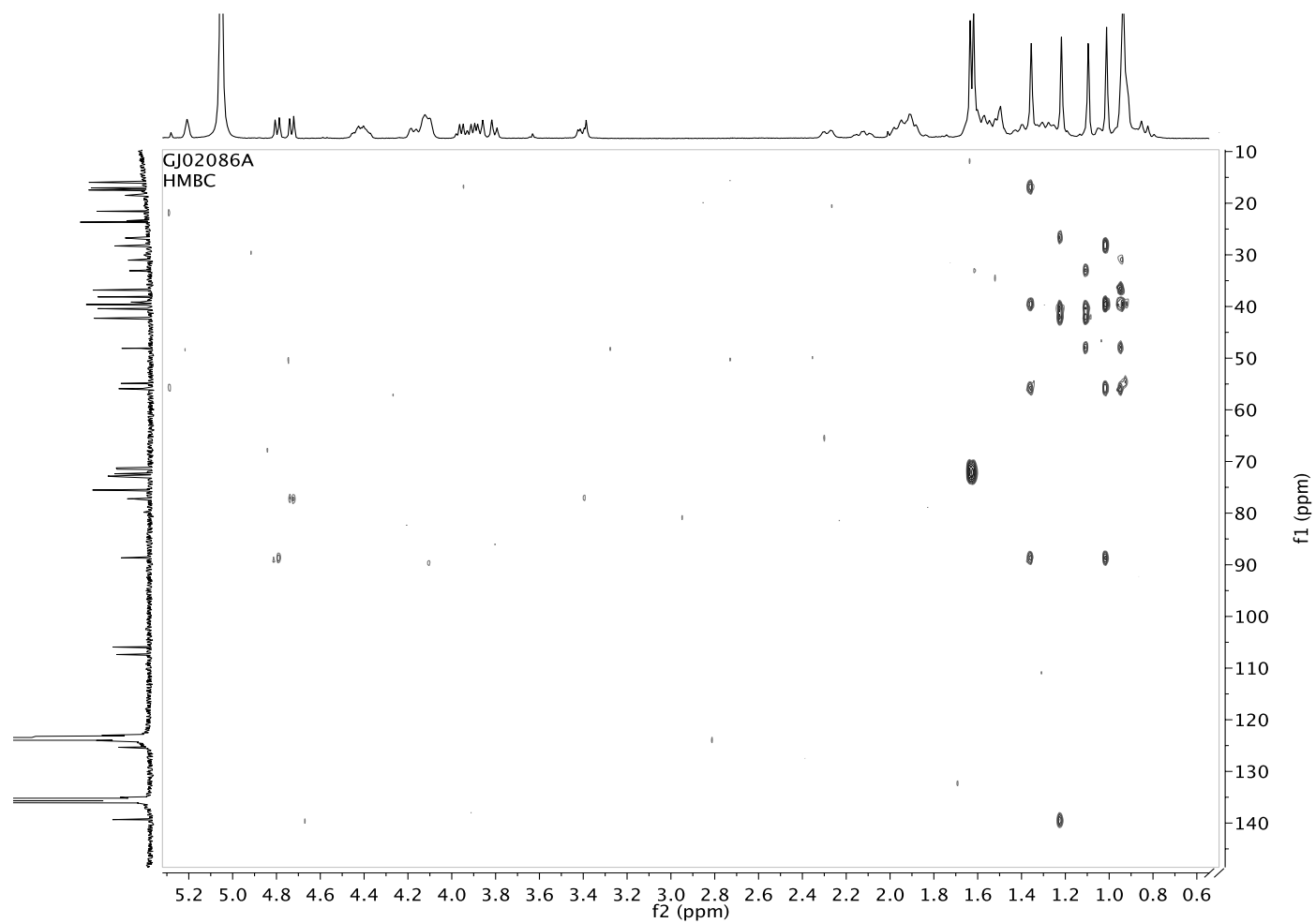
<sup>13</sup>C 3,28-di-O-β-D-fucopyranosyl uvaol (49)

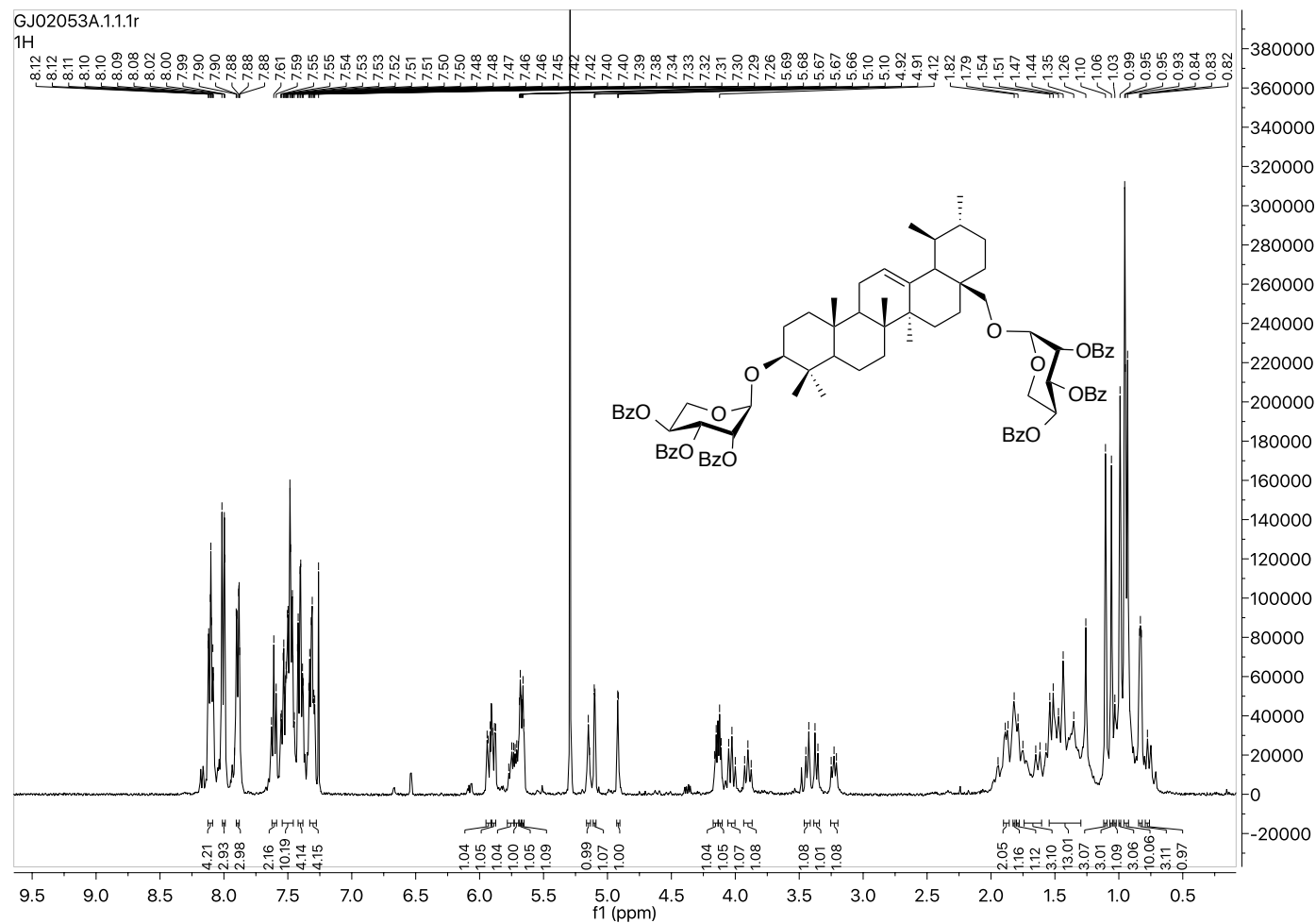
DEPT135 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosyl uvaol (**49**)



COSY 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosyl uvaol (**49**)

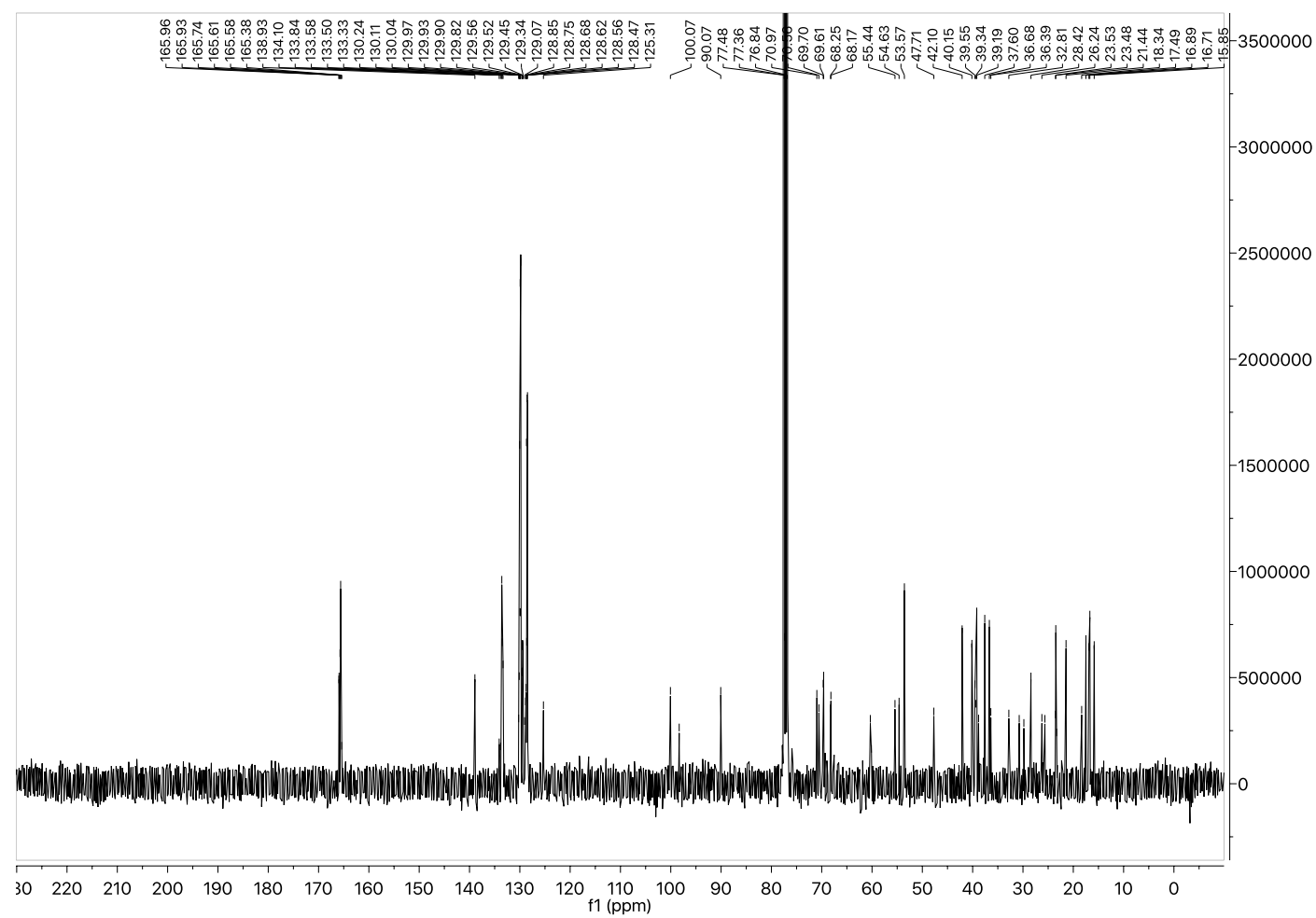
HSQC 3,28-di-*O*-β-D-fucopyranosyl uvaol (**49**)

HMBC 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-fucopyranosyl uvaol (**49**)

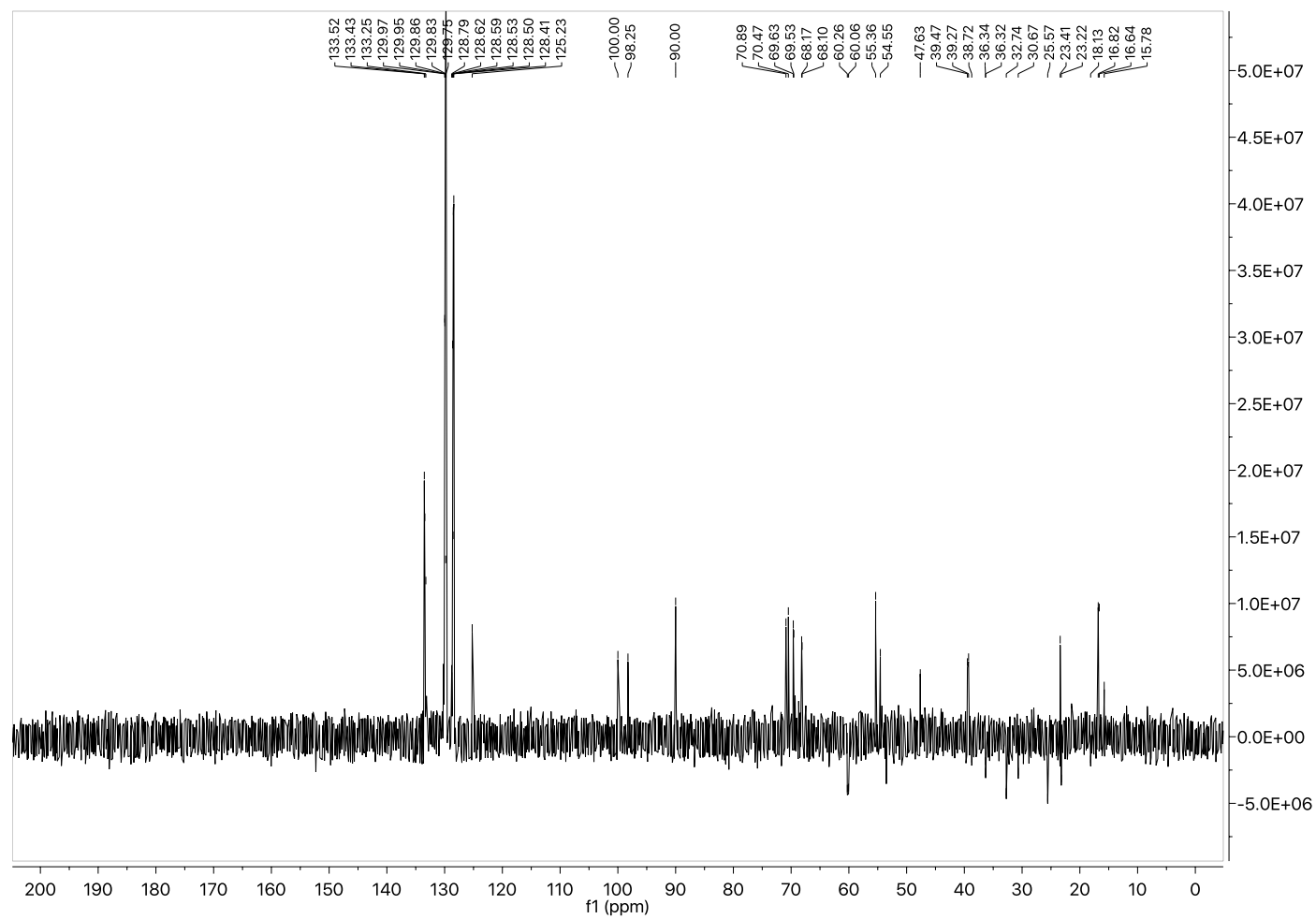


<sup>1</sup>H 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-α-L-lyxopyranosyl) uvaol (42)

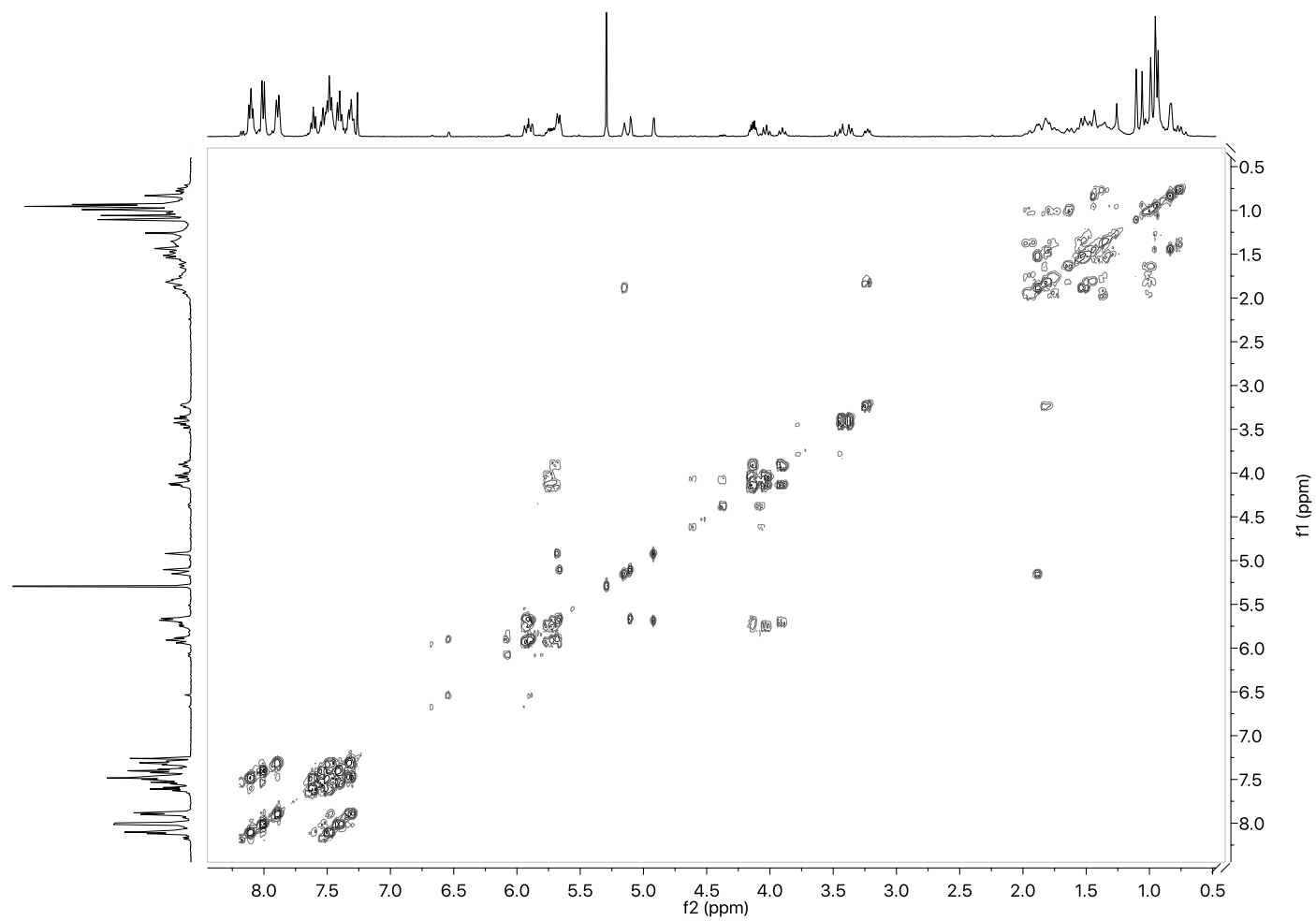
Chloroform-d



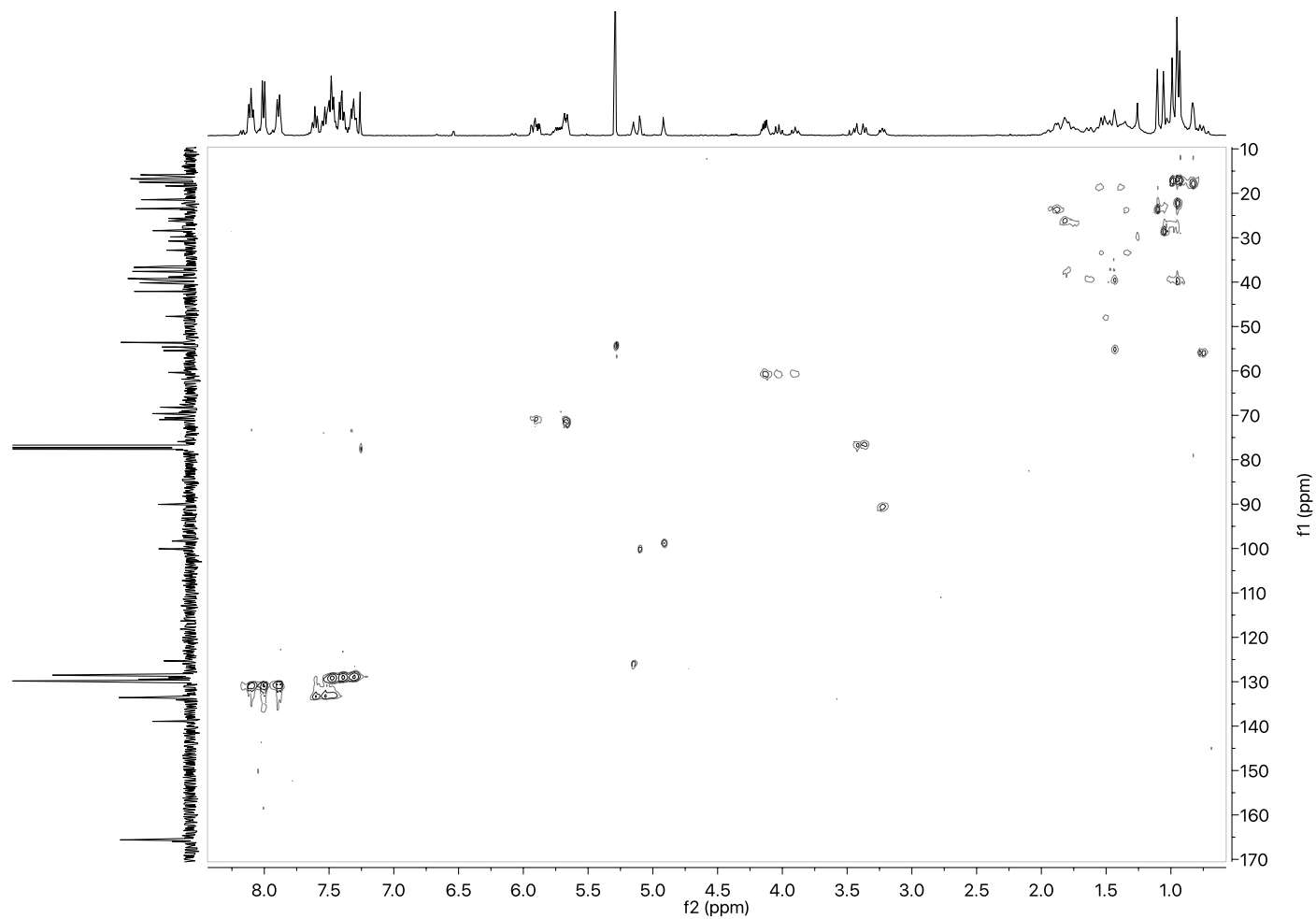
<sup>13</sup>C 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**)

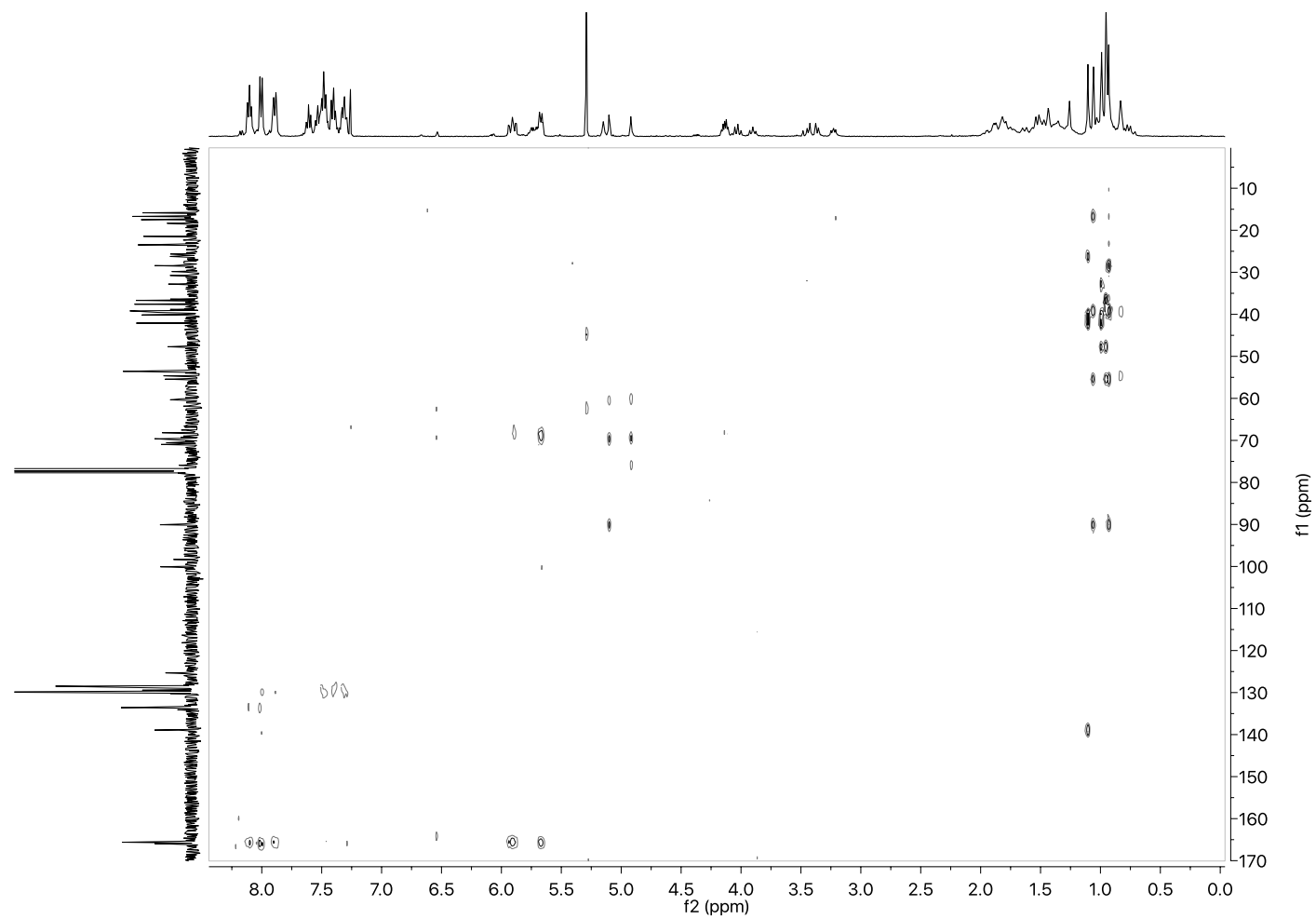




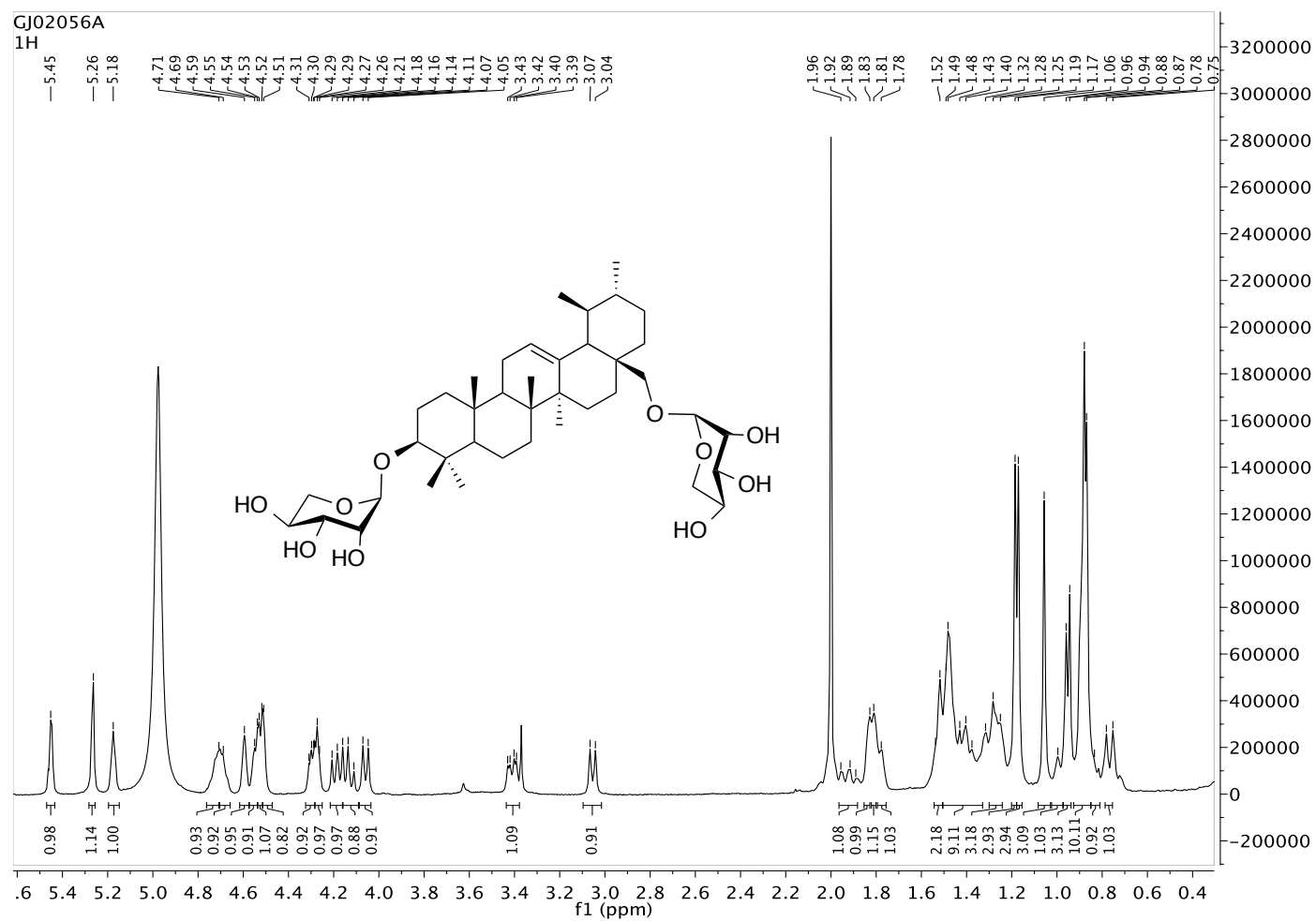


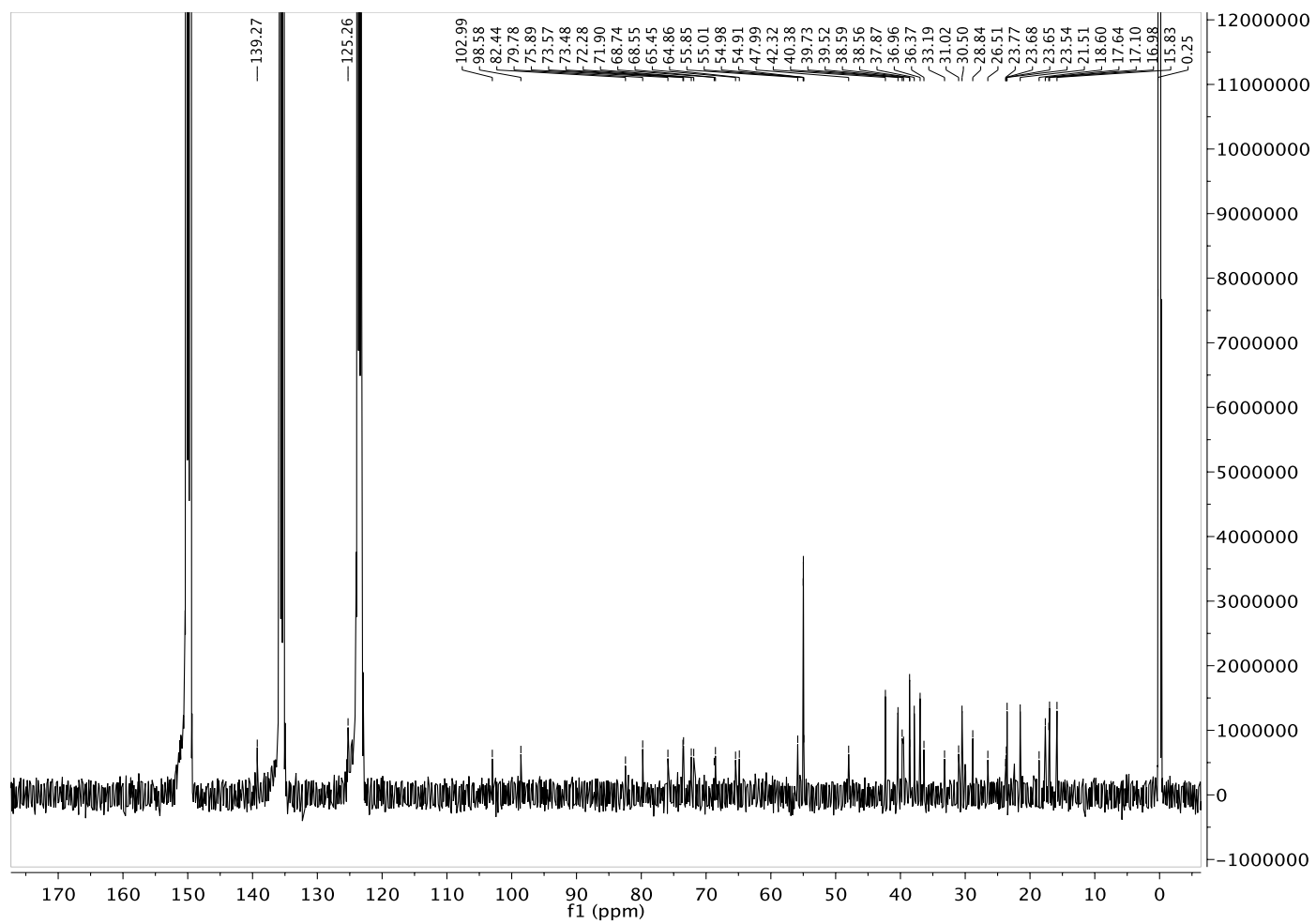
DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**)

HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**)

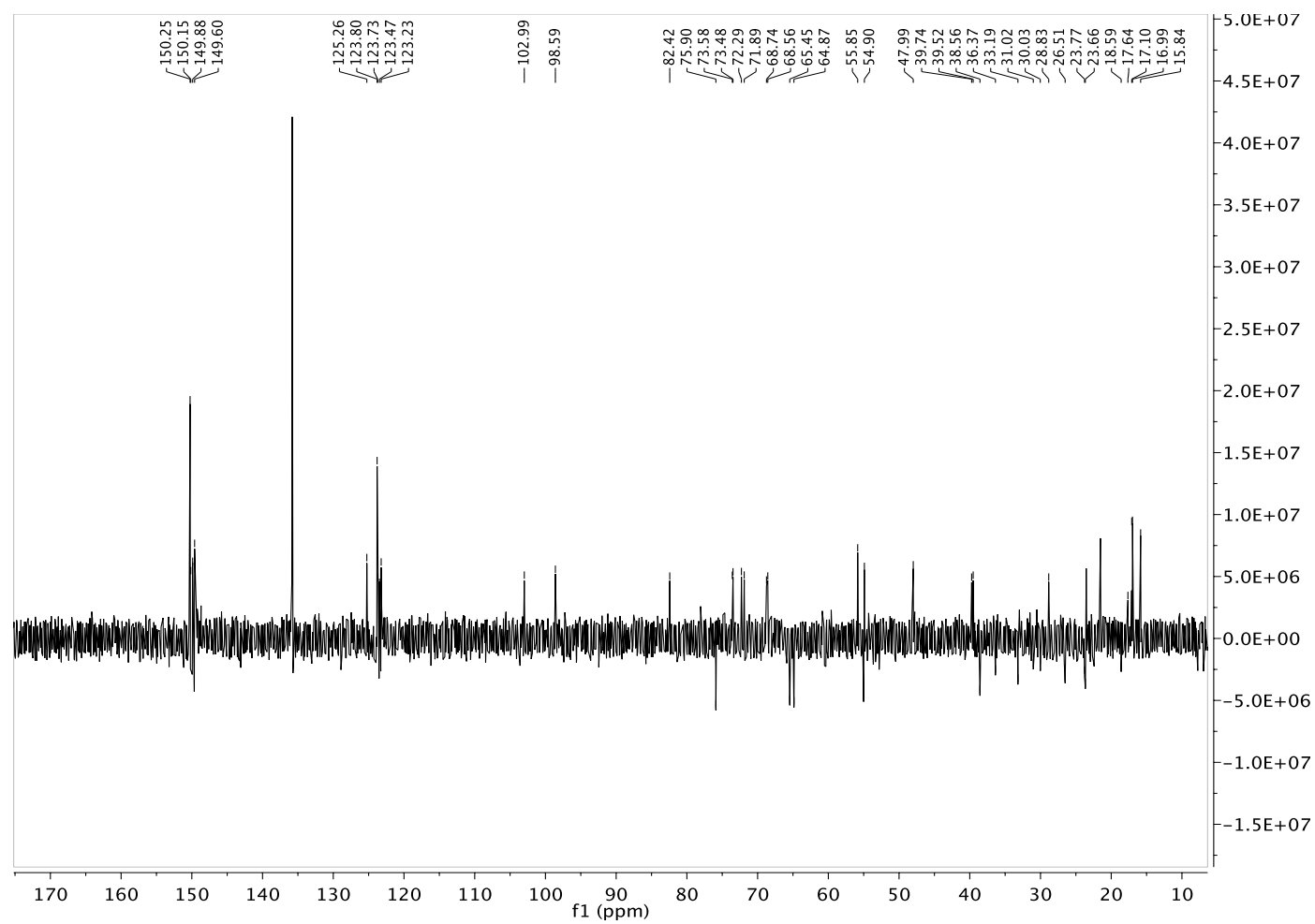


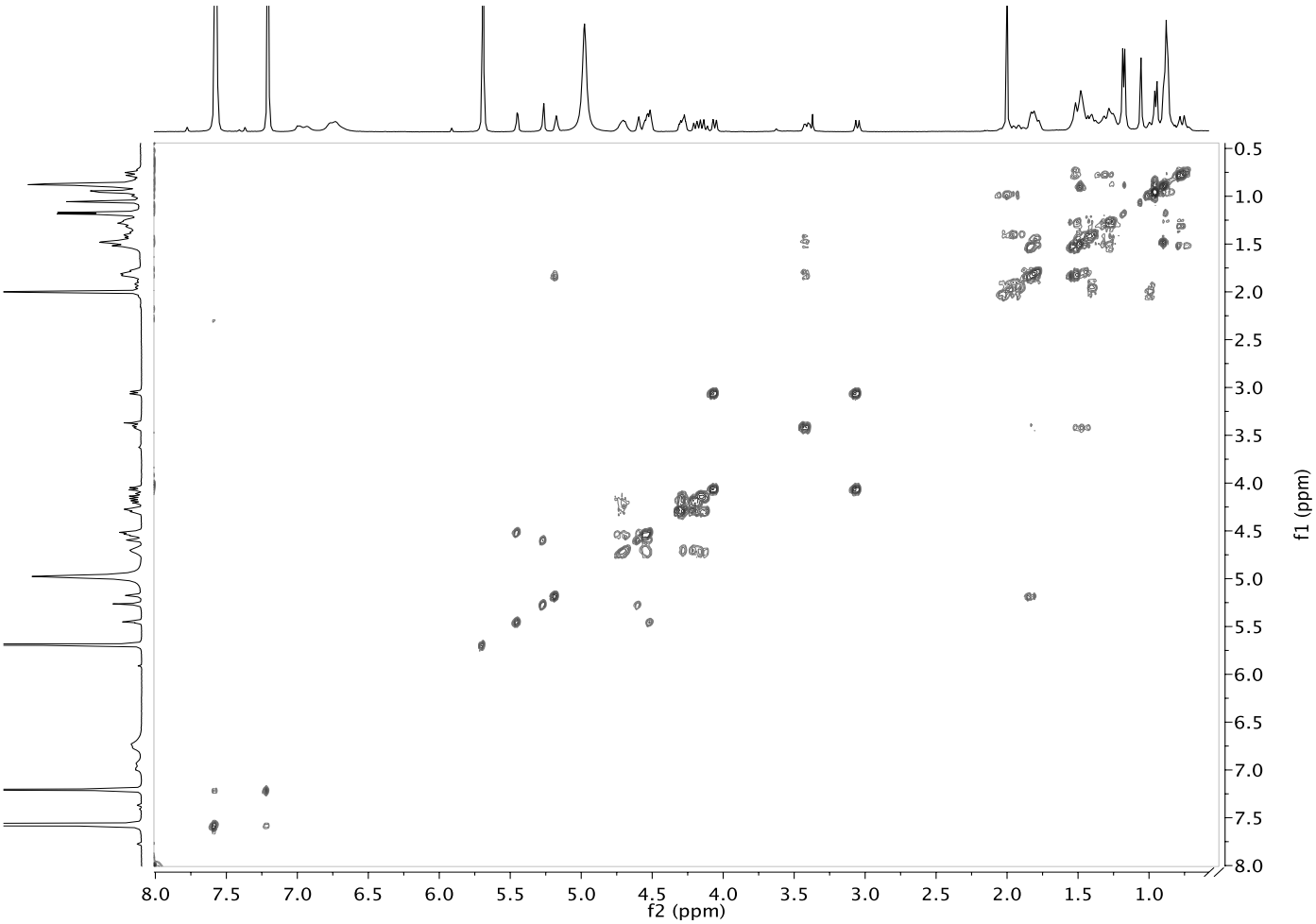
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl) uvaol (**42**)

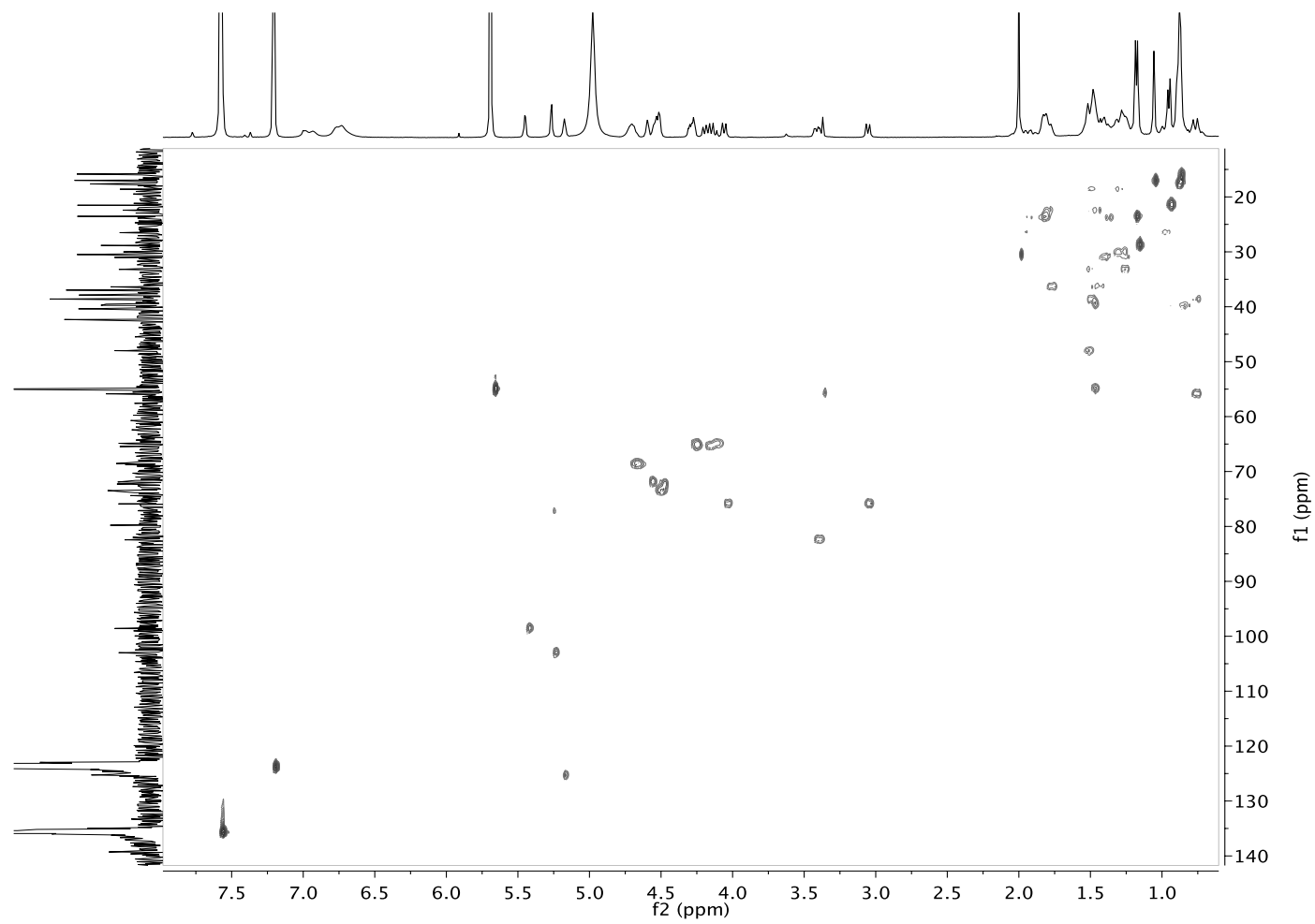
<sup>1</sup>H 3,28-di-O-α-L-lyxopyranosyl uvaol (**50**)Pyridine-*d*<sub>5</sub>



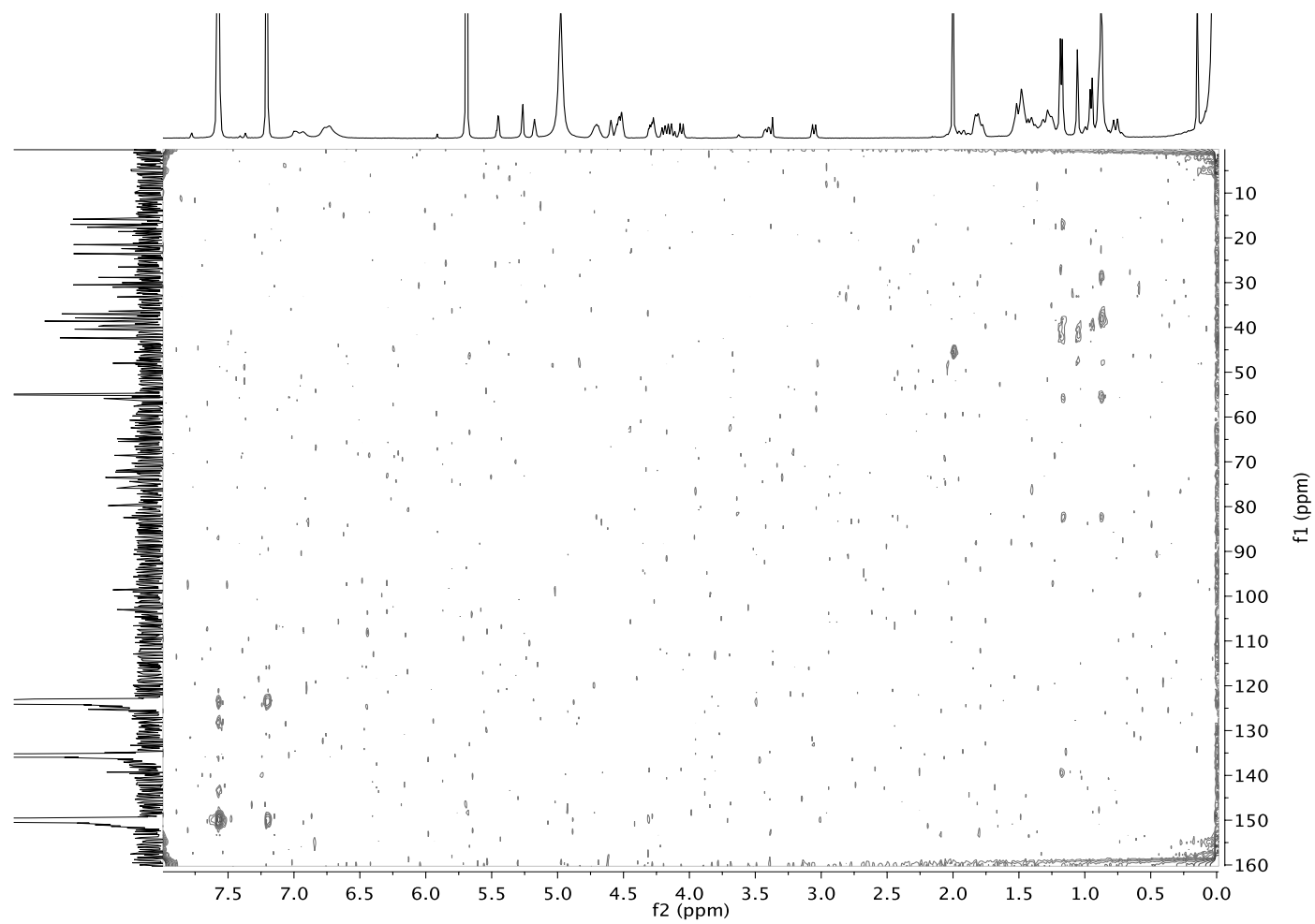
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl uvaol (**50**)



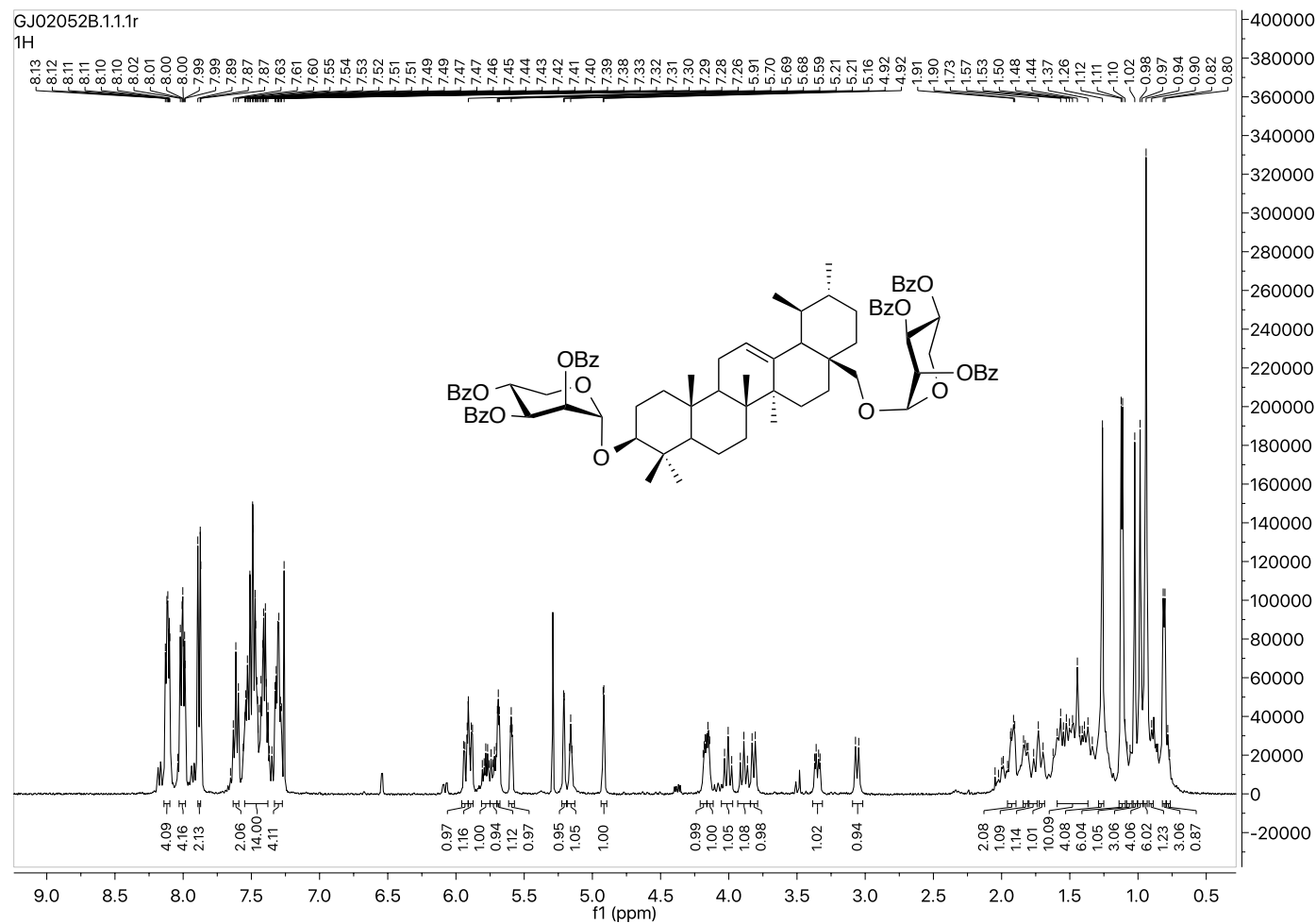
COSY 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl uvaol (**50**)





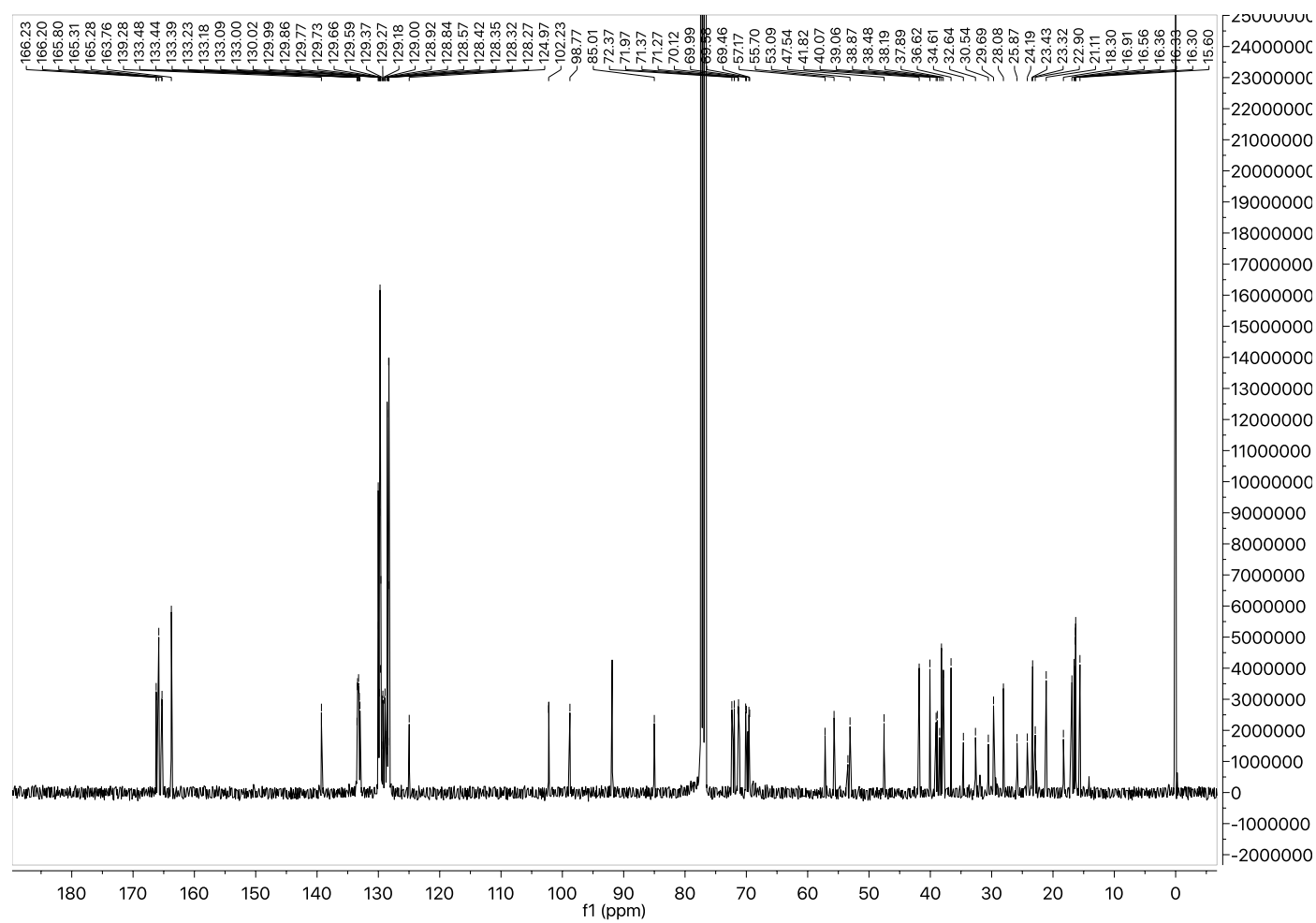


HMBC 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-lyxopyranosyl uvaol (**50**)

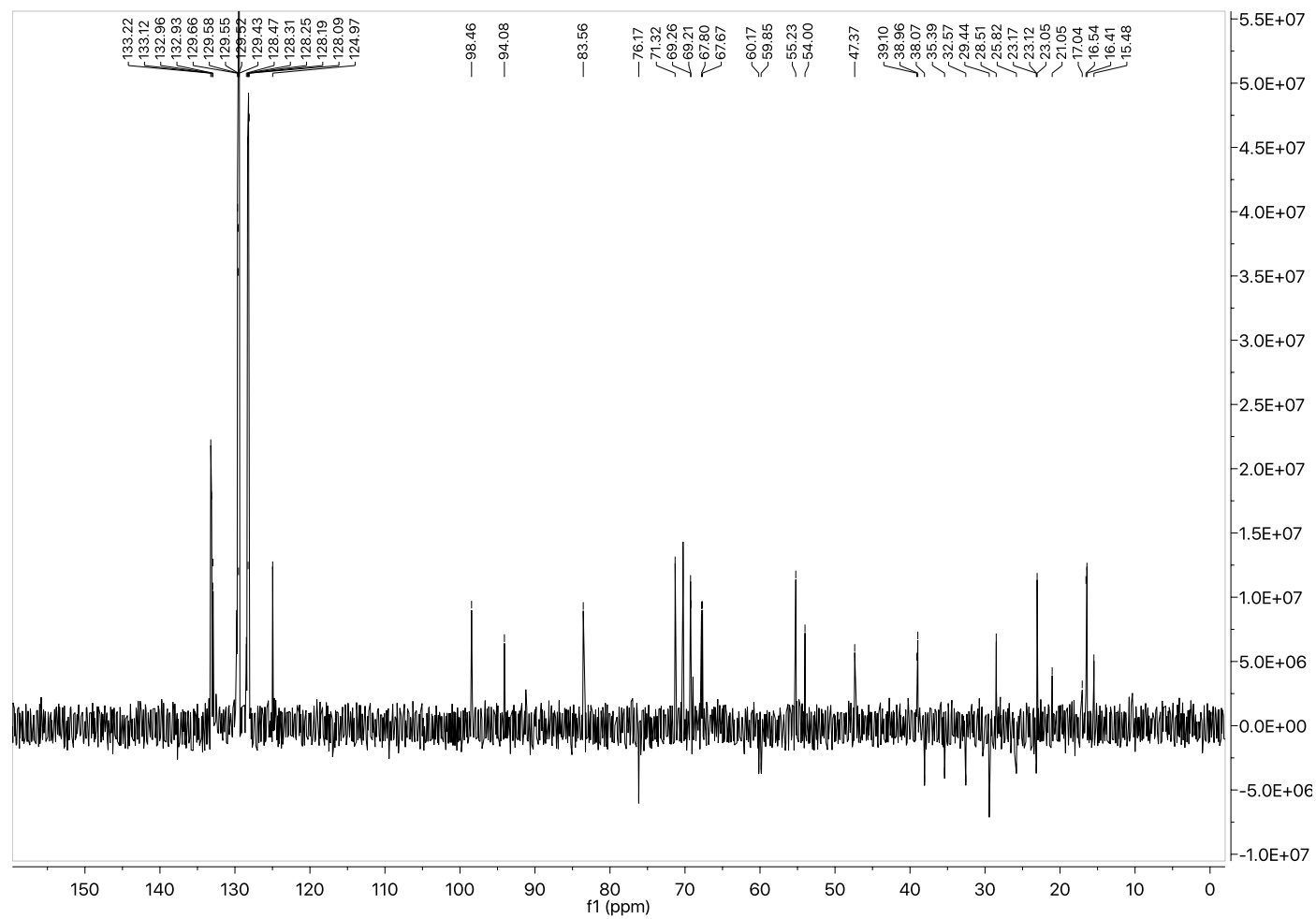


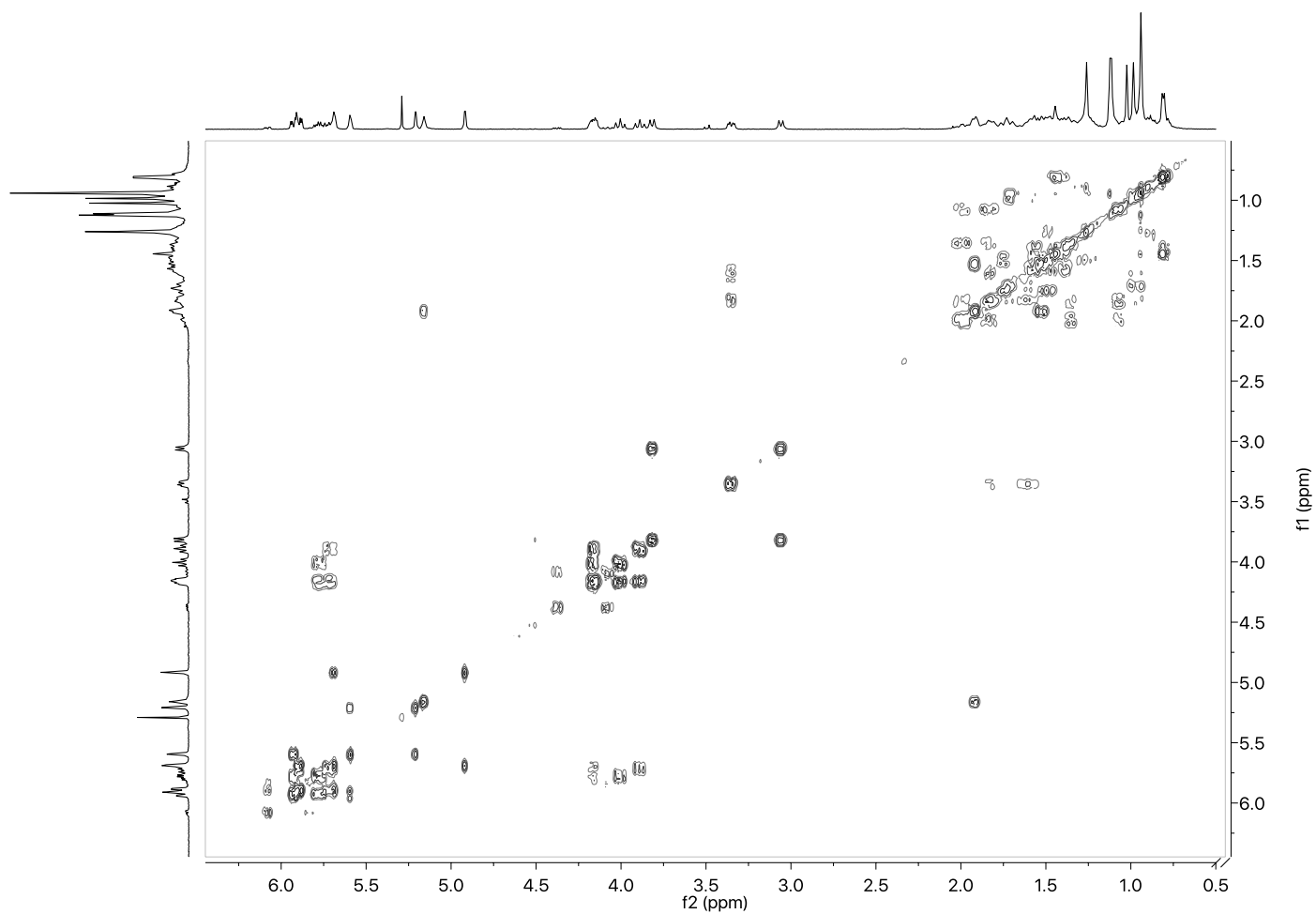
<sup>1</sup>H 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-α-D-lyxopyranosyl) uvaol (43)

Chloroform-d

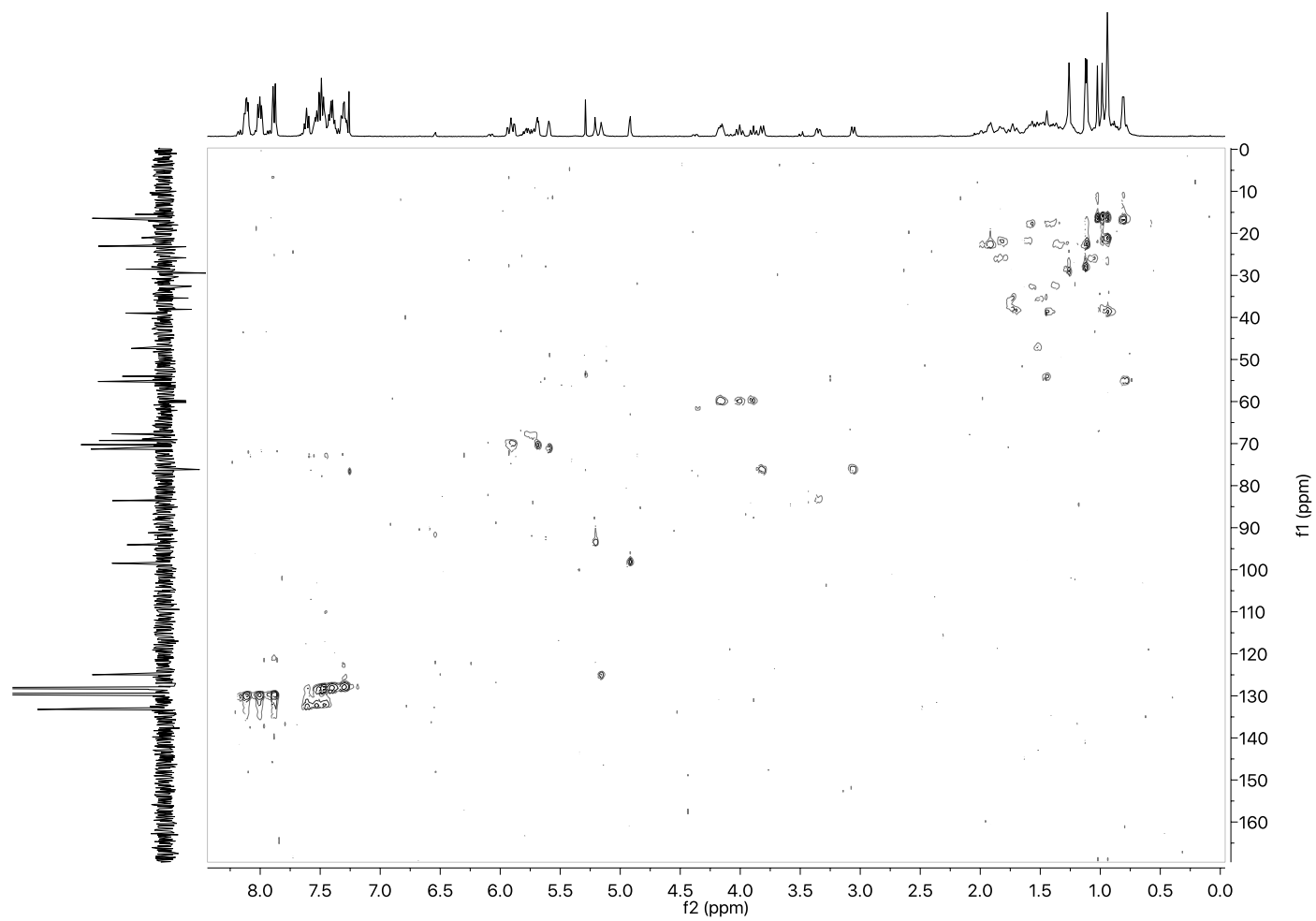


<sup>13</sup>C 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-α-D-lyxopyranosyl) uvaol (43)

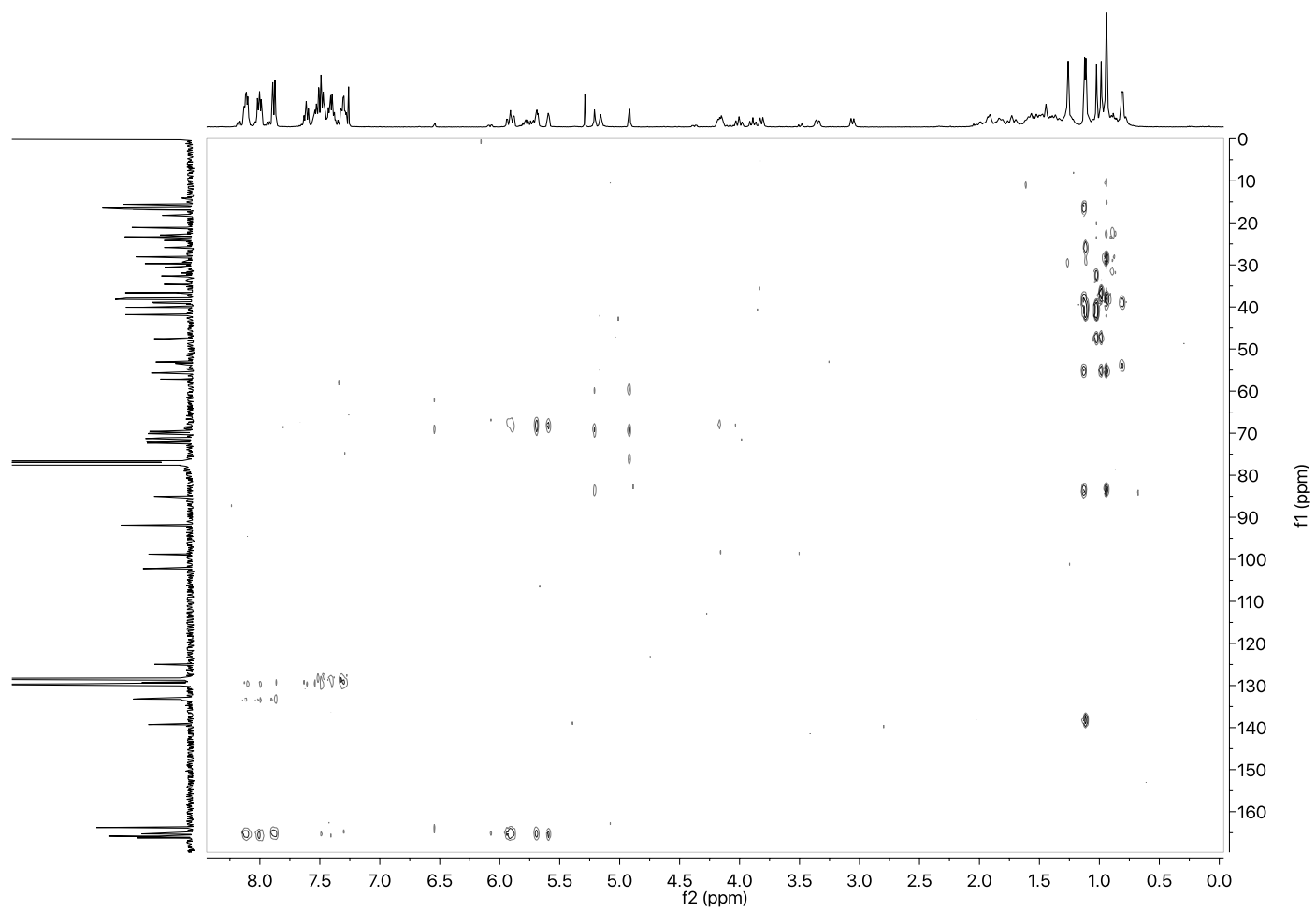
DEPT135 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**)



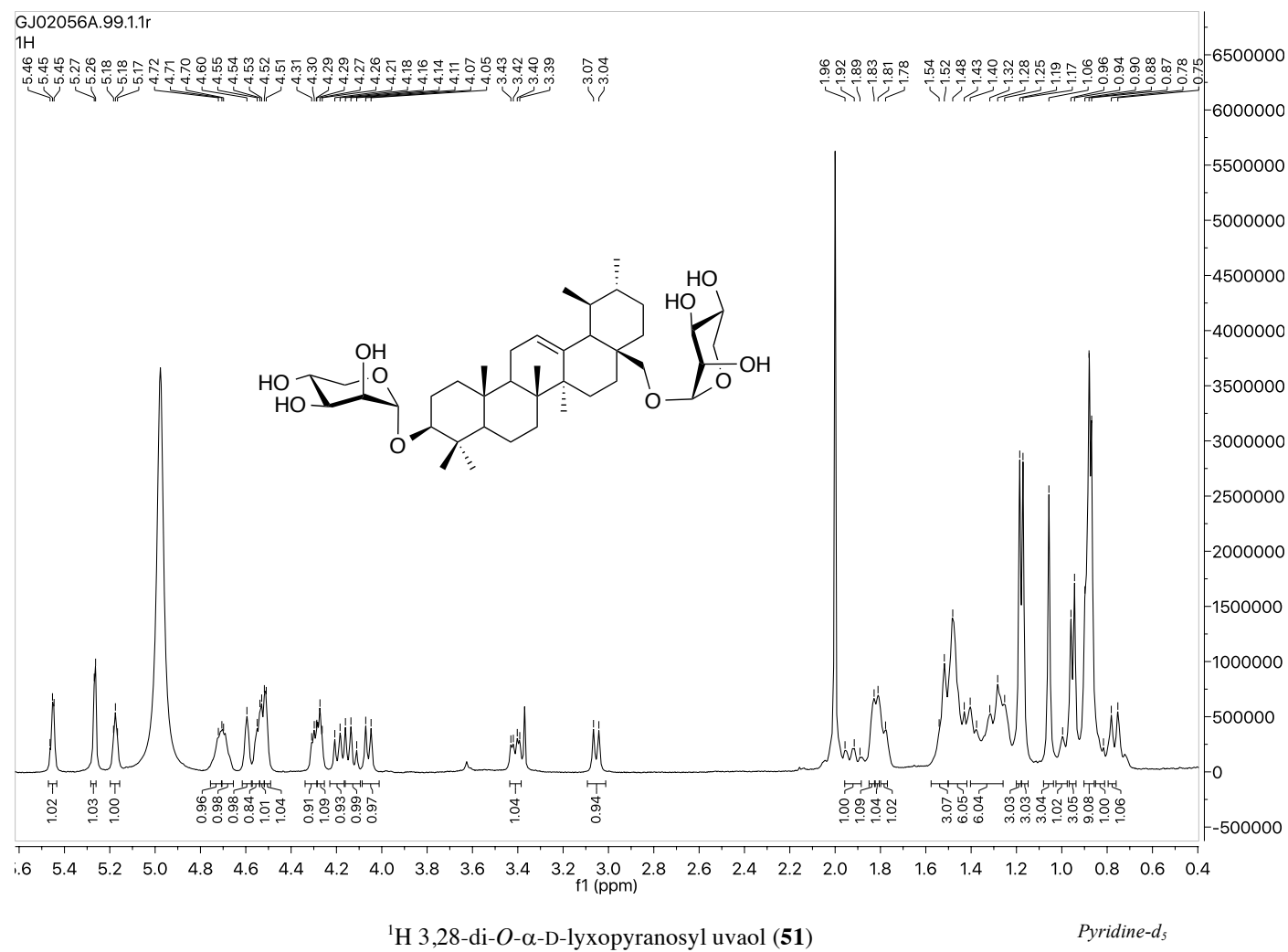
COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**)



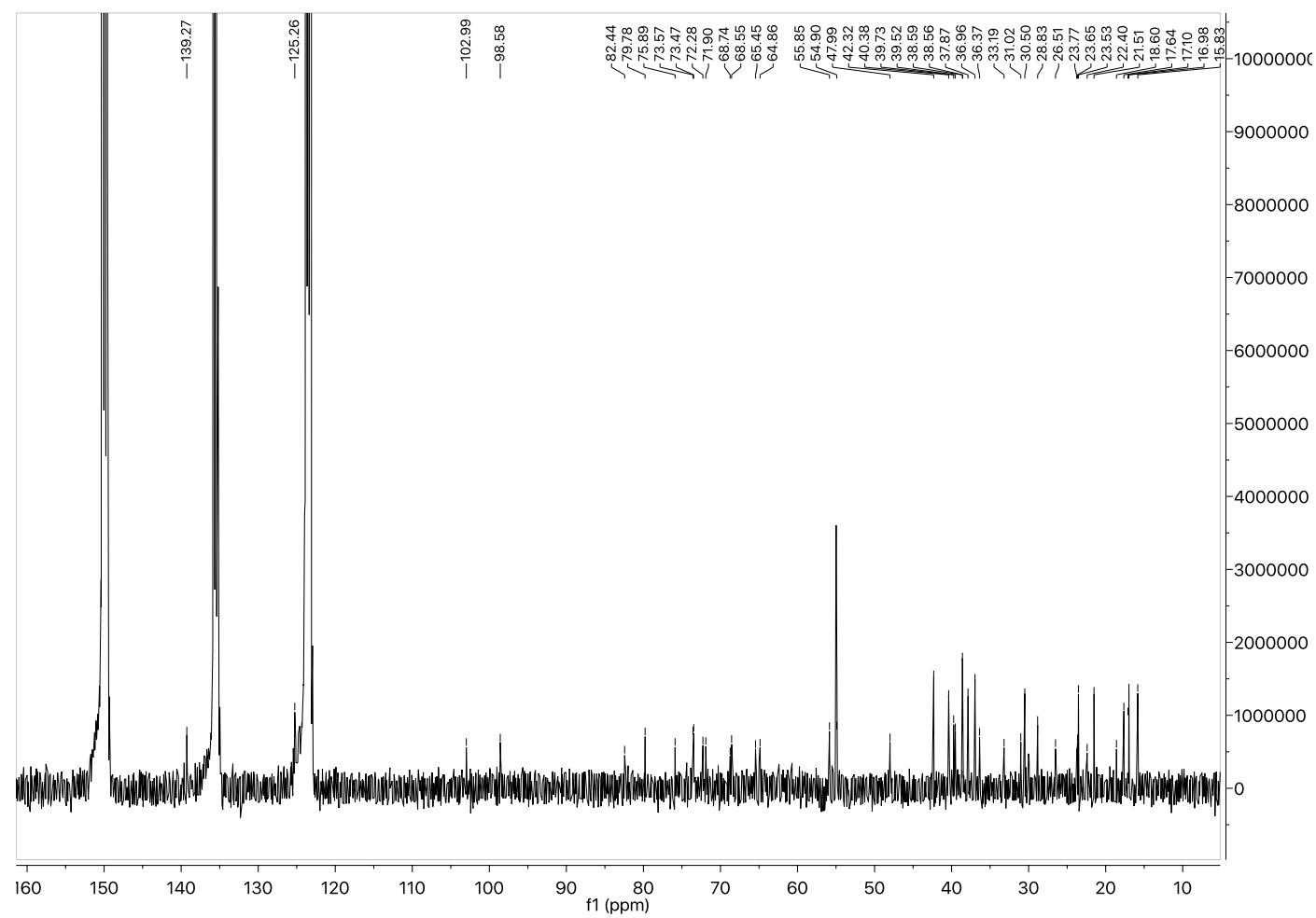
HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**)



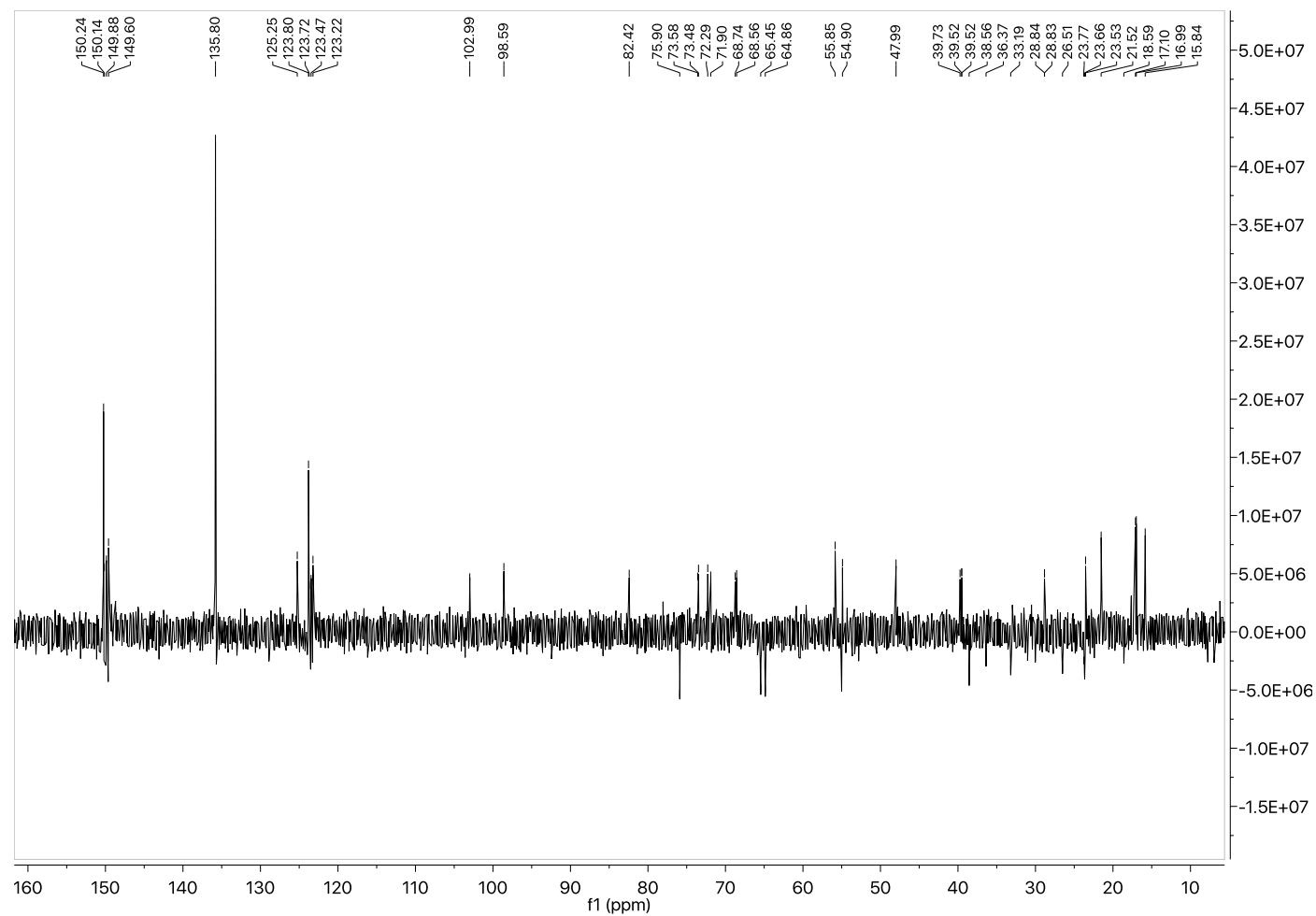
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl) uvaol (**43**)

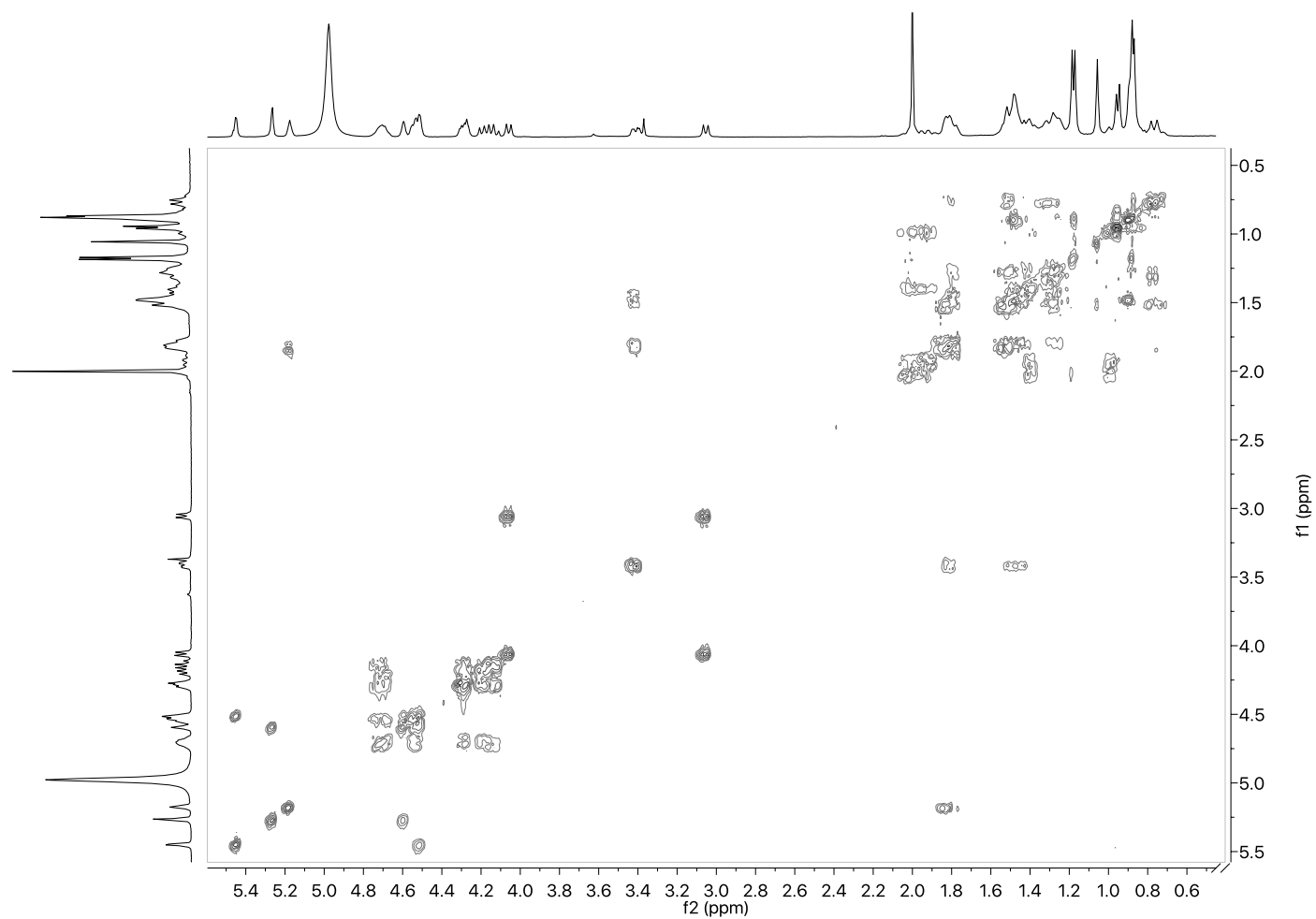


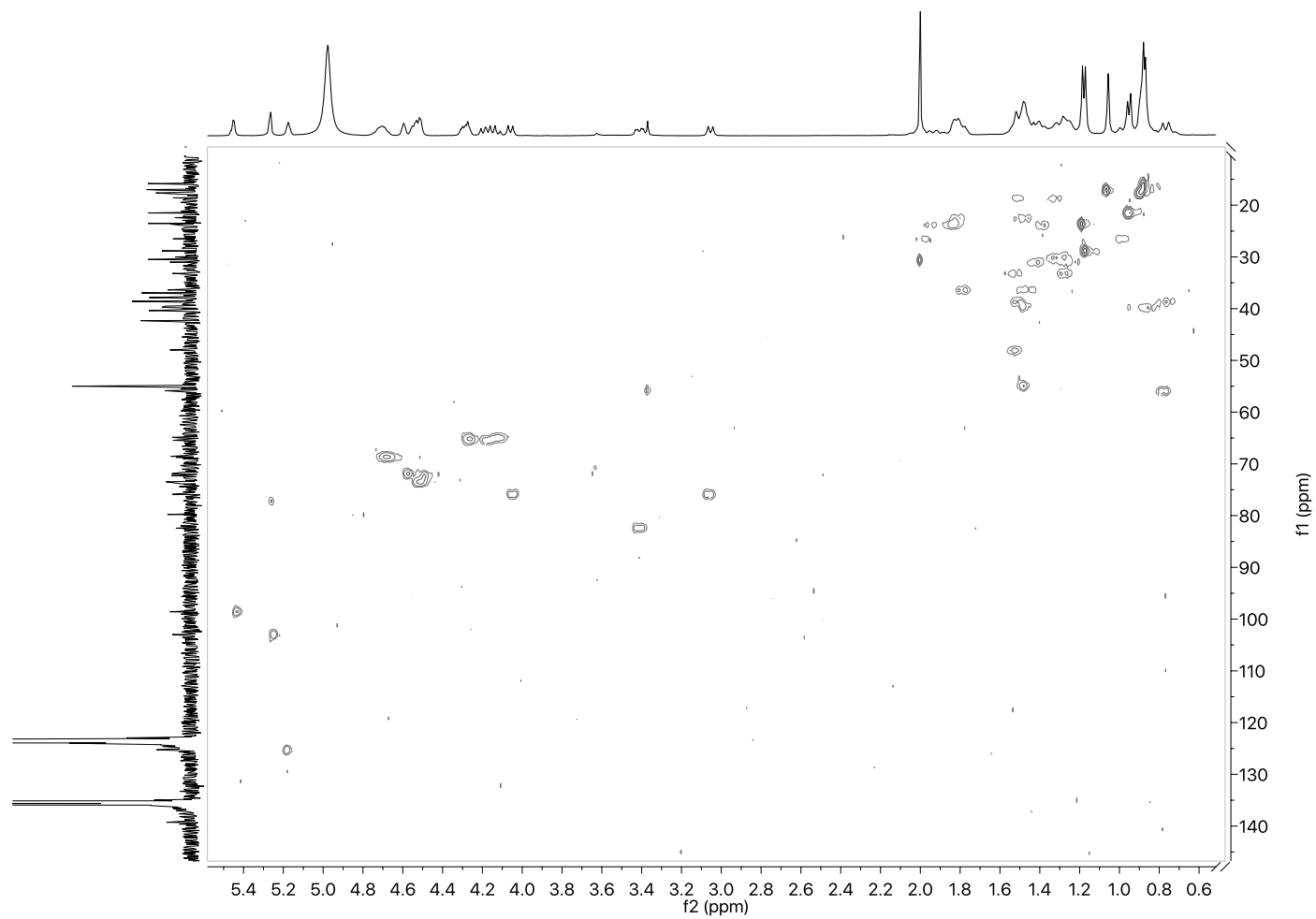




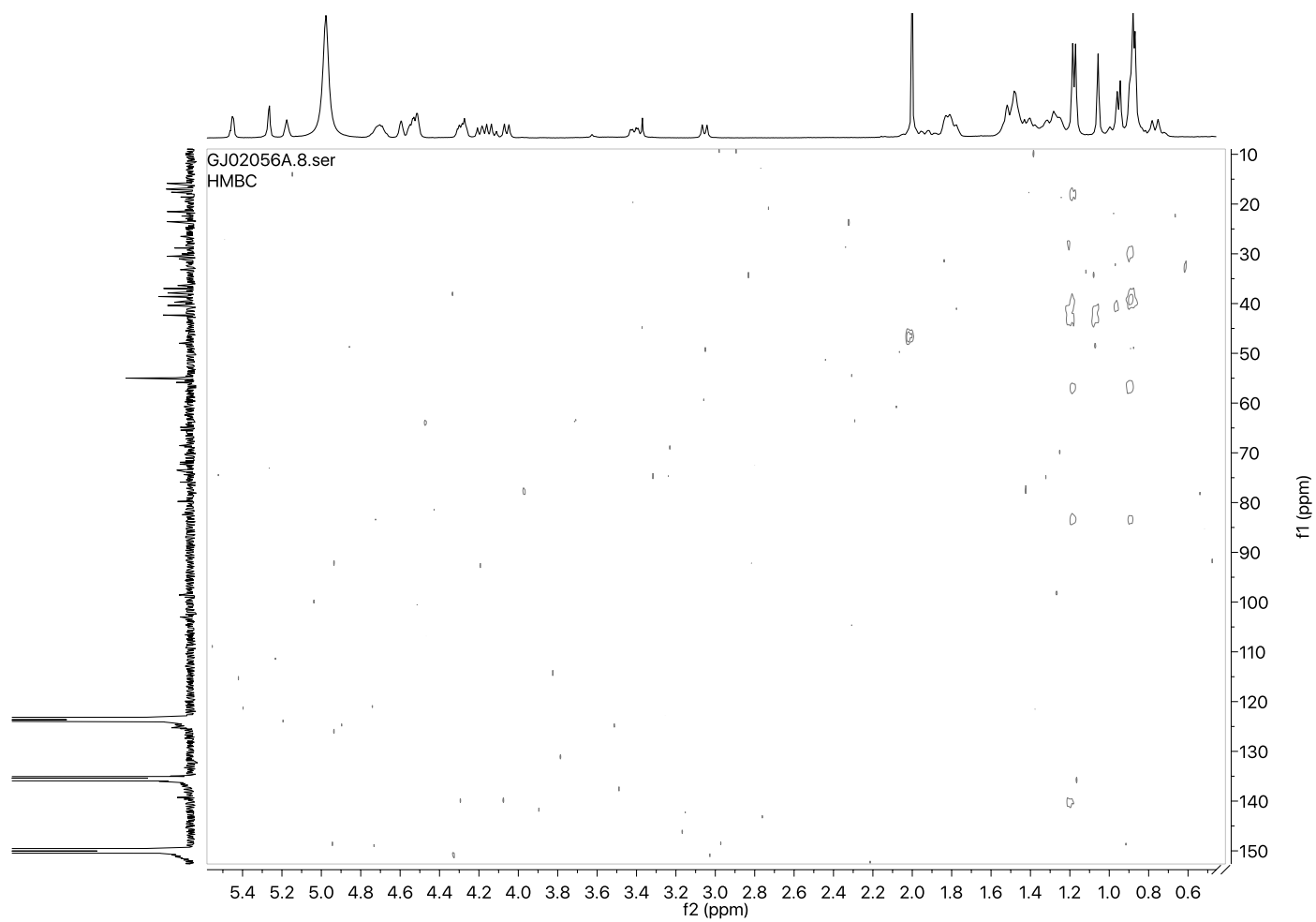
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl uvaol (**51**)

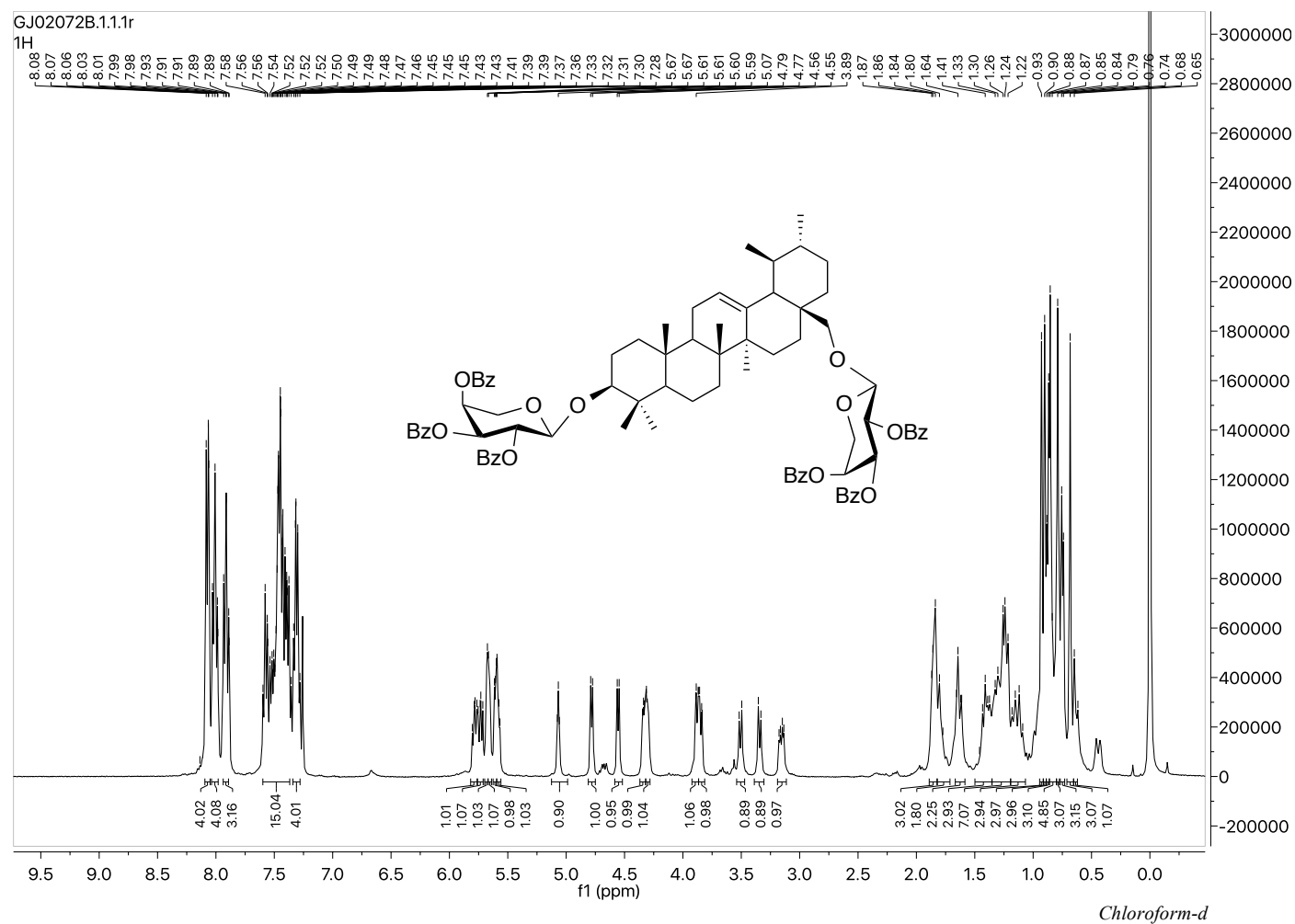
DEPT135 3,28-di-*O*- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl uvaol (**51**)

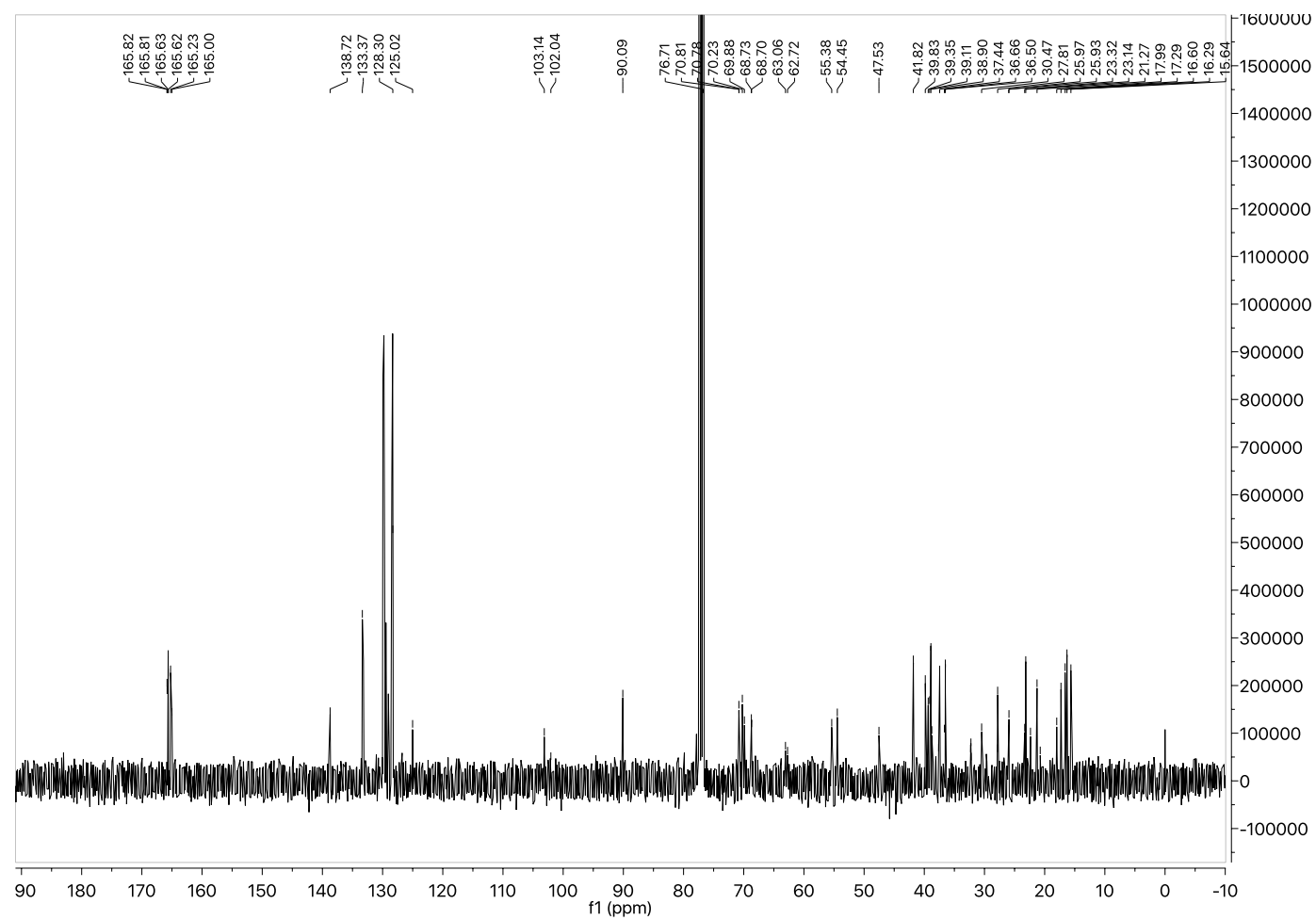
COSY 3,28-di-*O*- $\alpha$ -D-lyxopyranosyl uvaol (**51**)



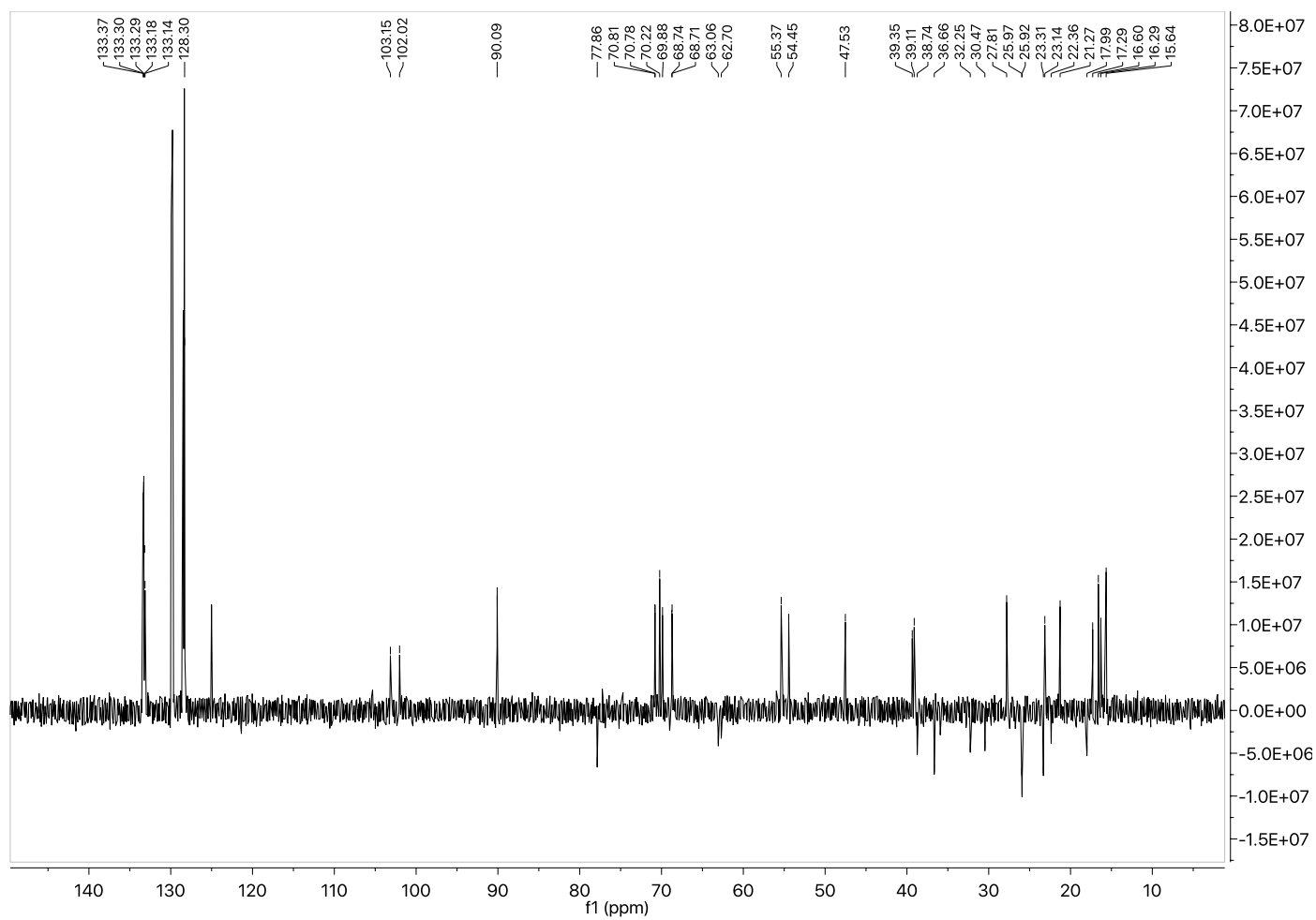
HSQC 3,28-di-*O*-α-D-lyxopyranosyl uvaol (**51**)



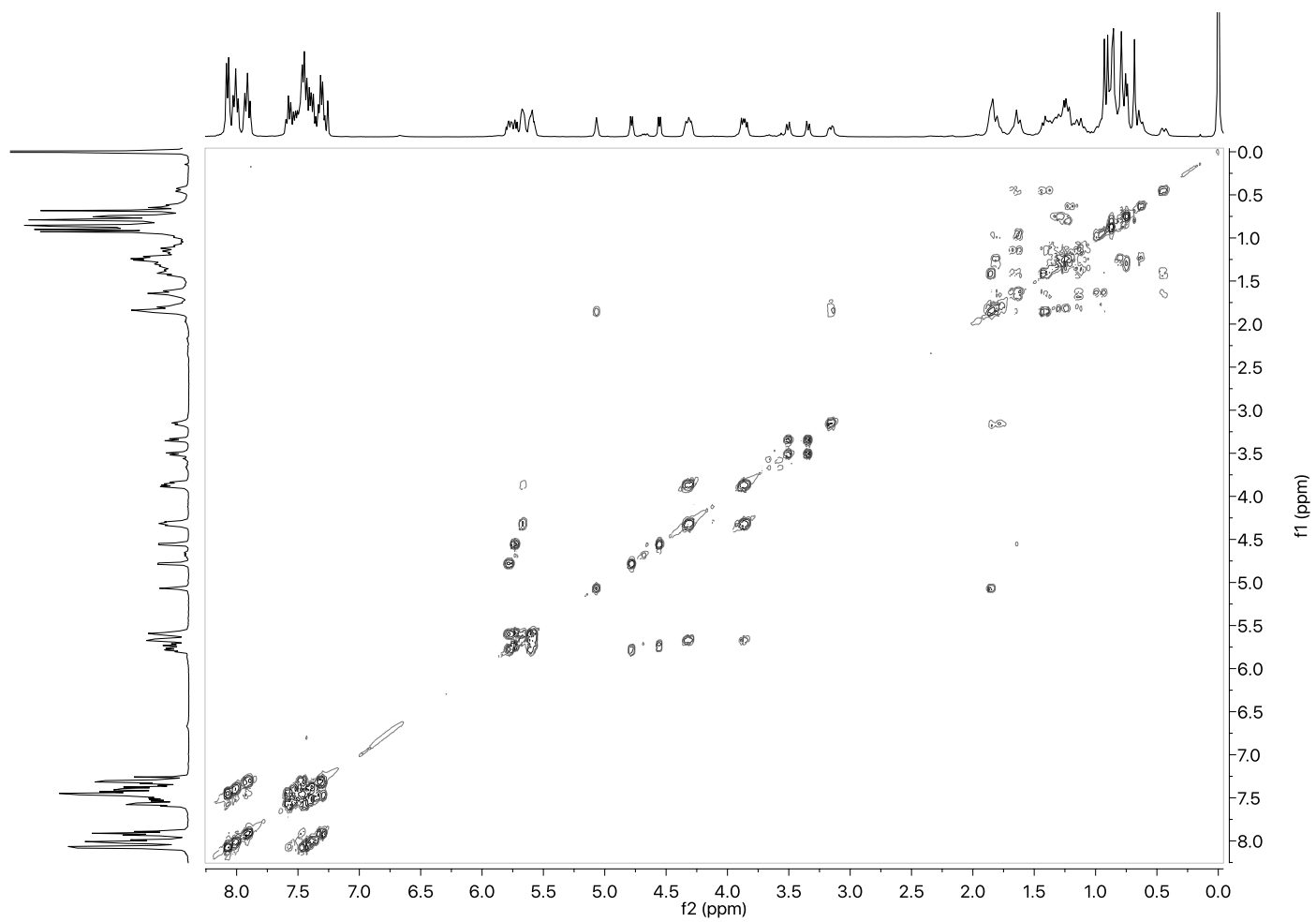




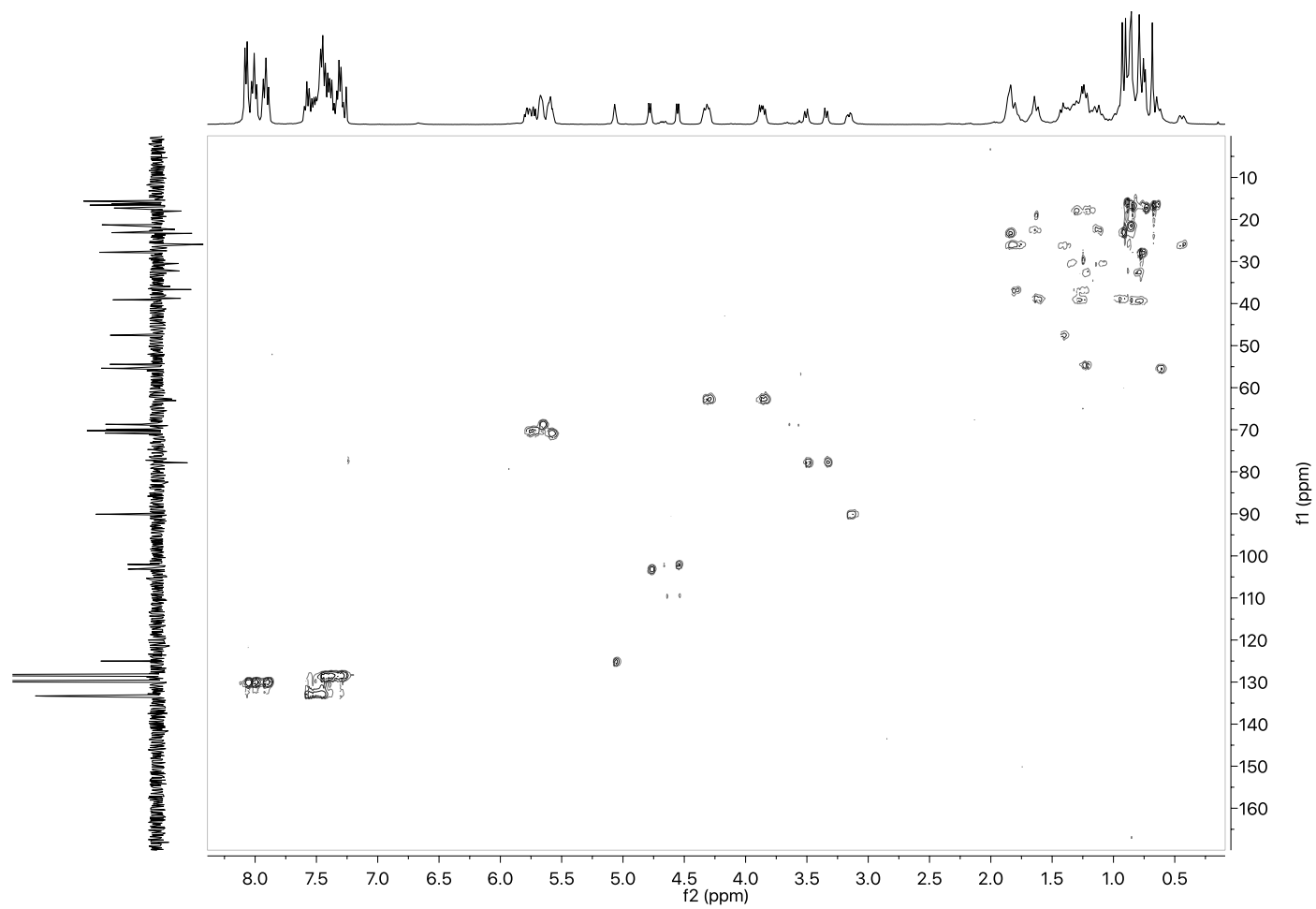
<sup>13</sup>C 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl-α-L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

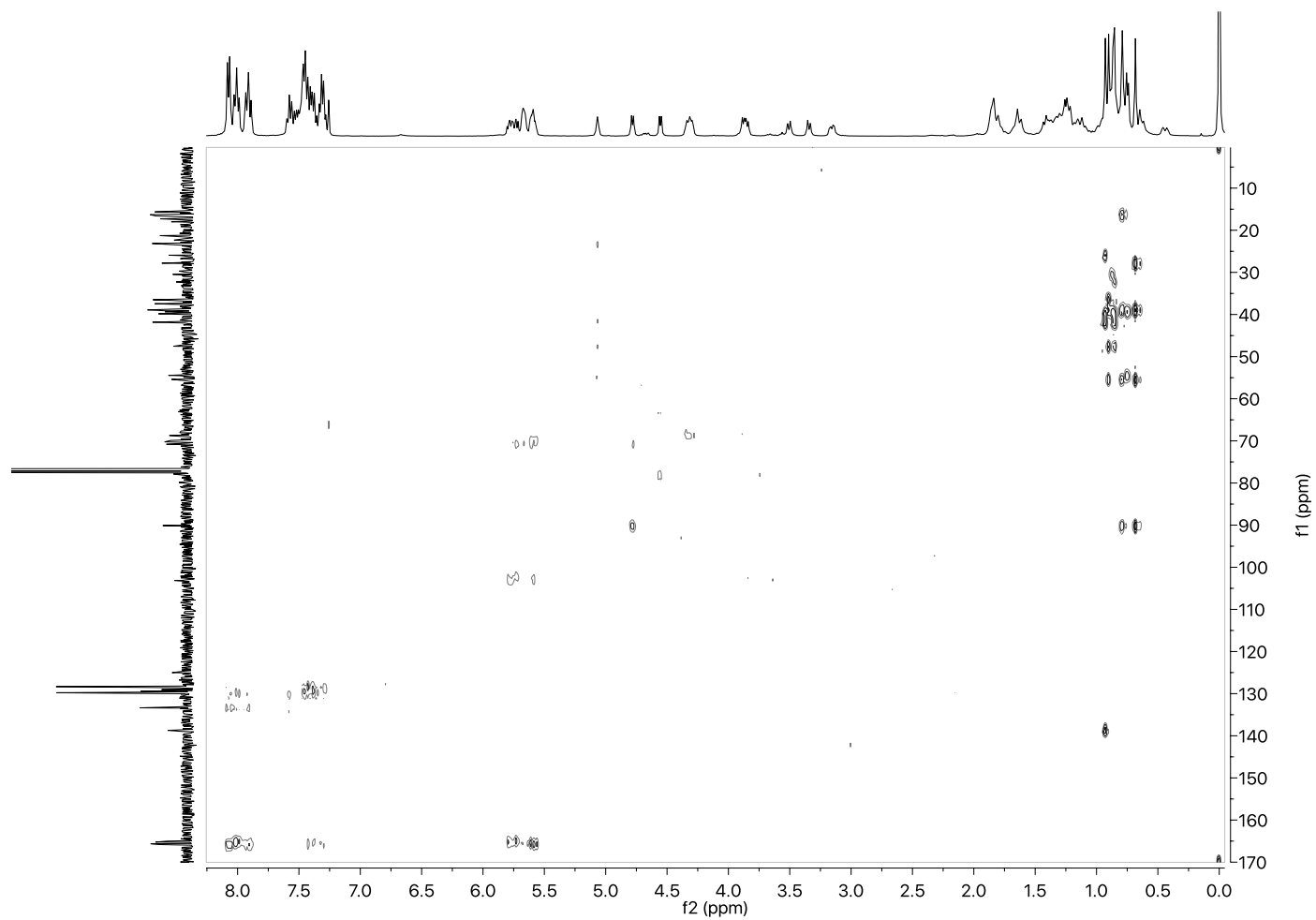




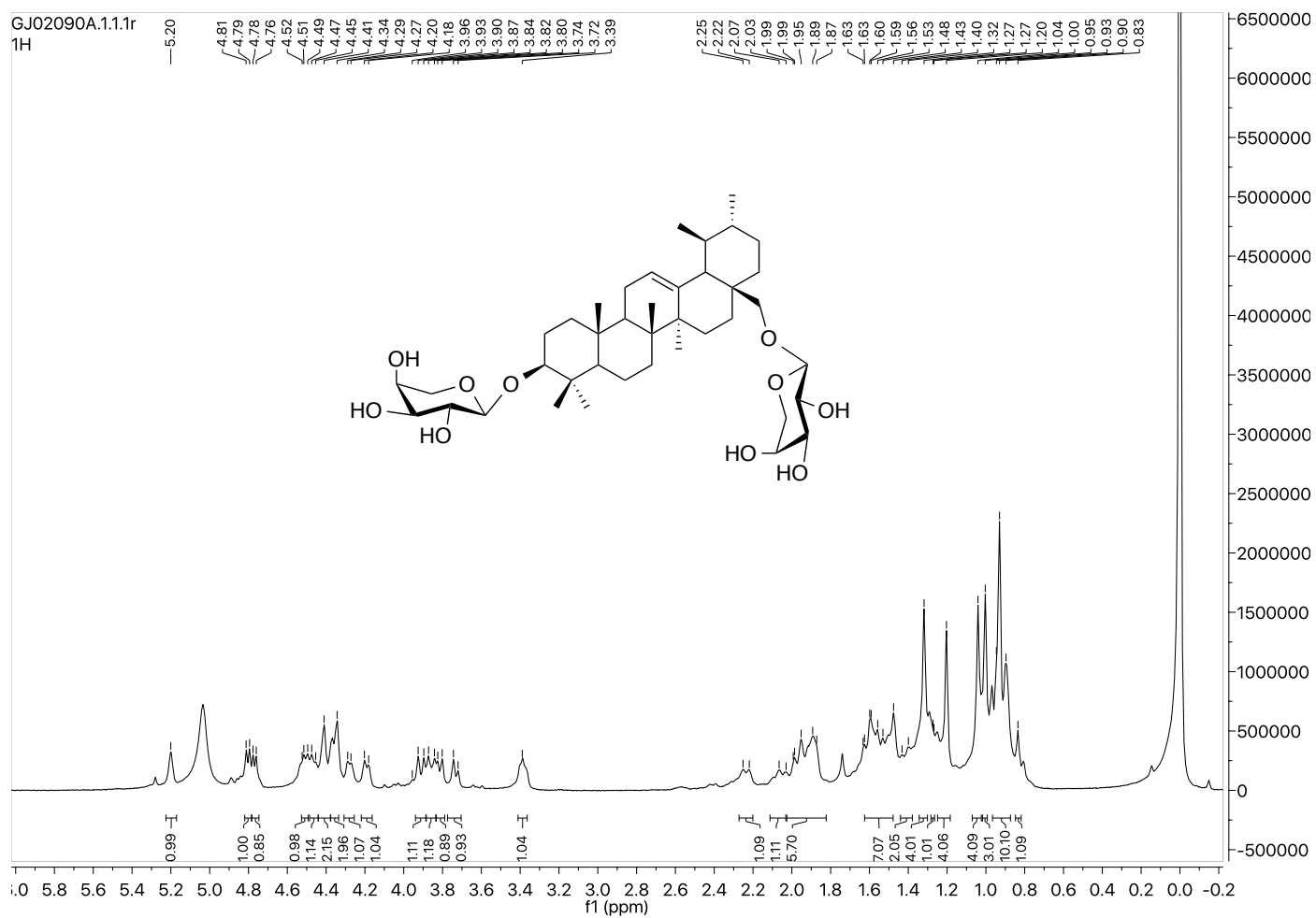
COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

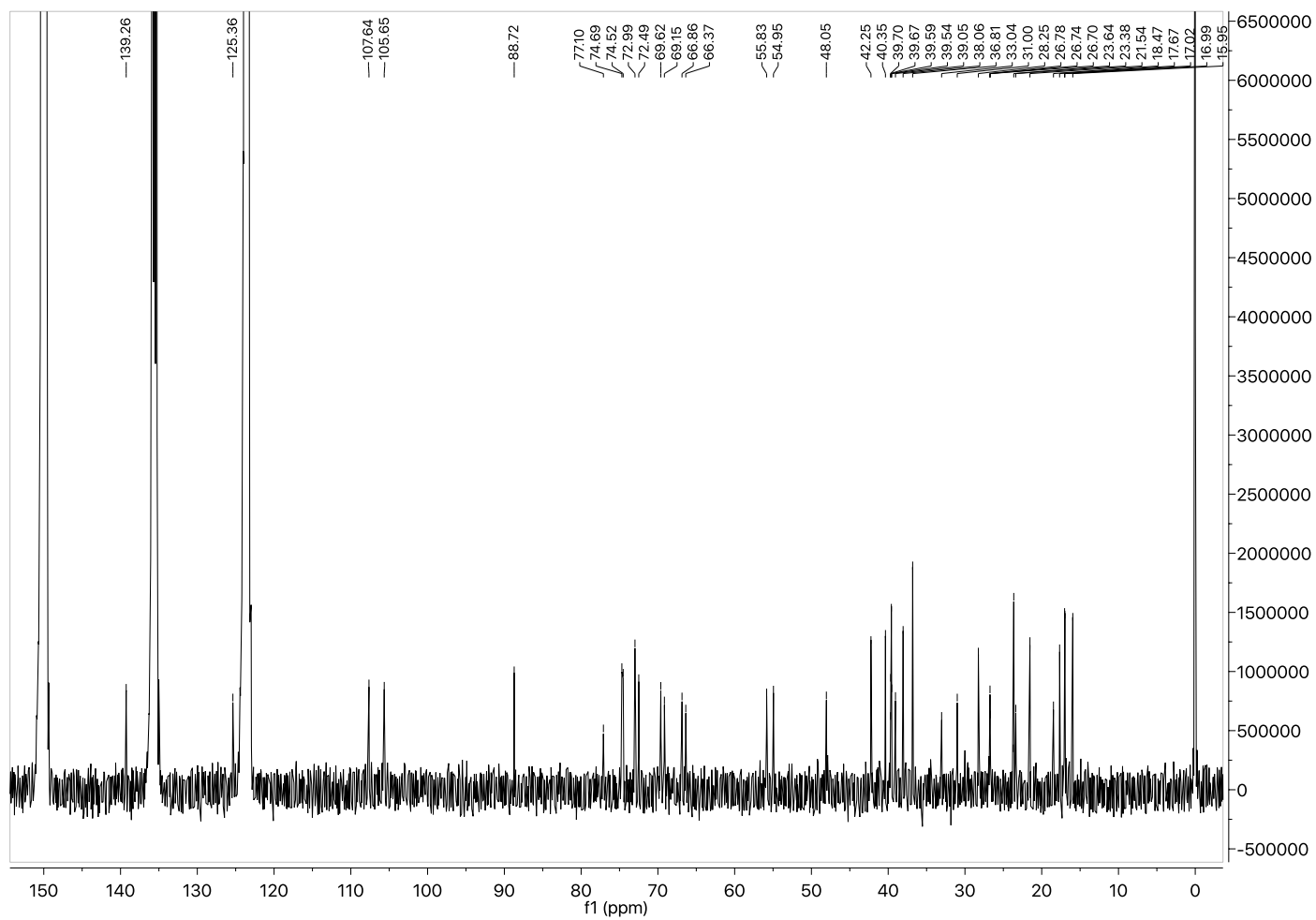


HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

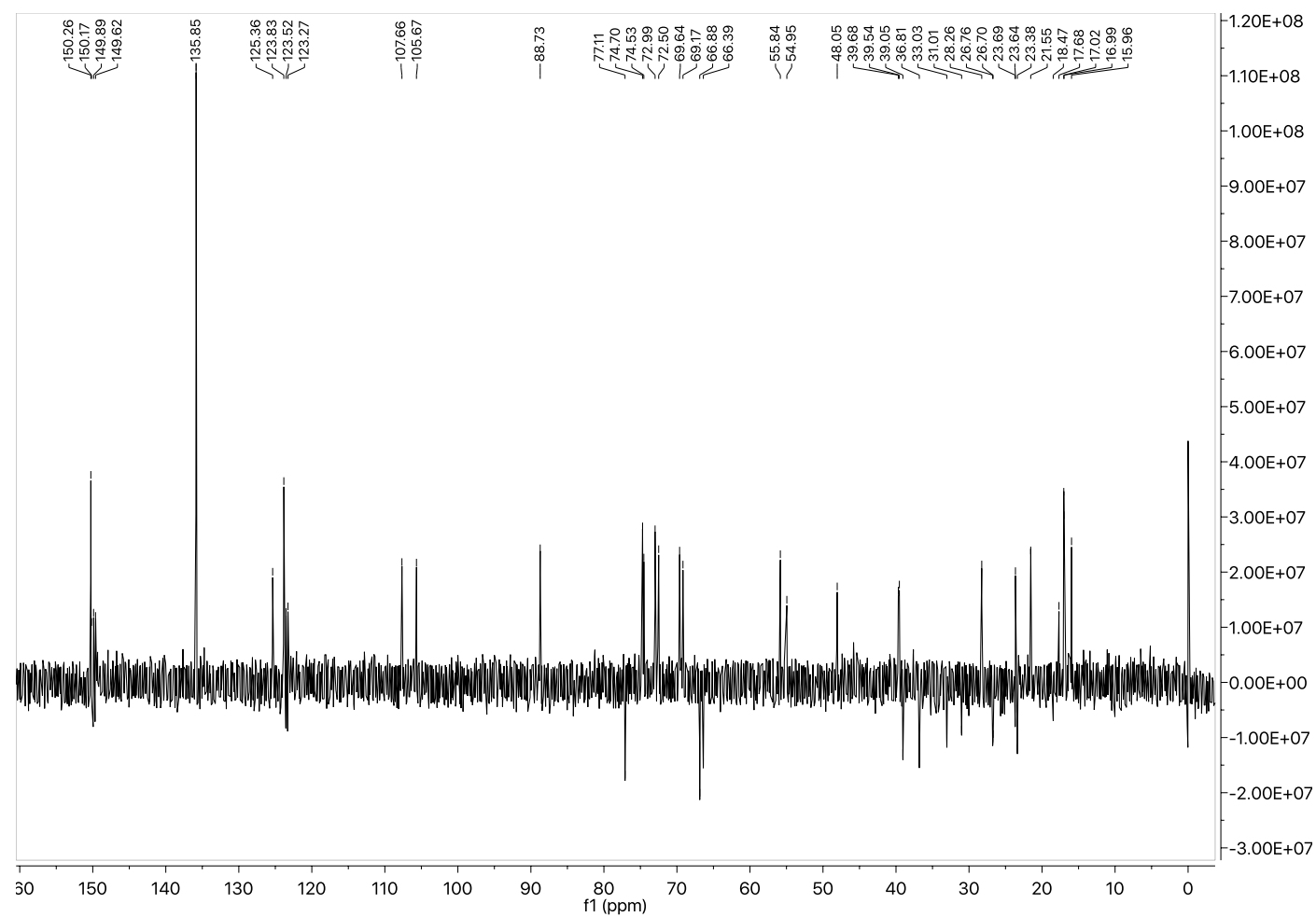


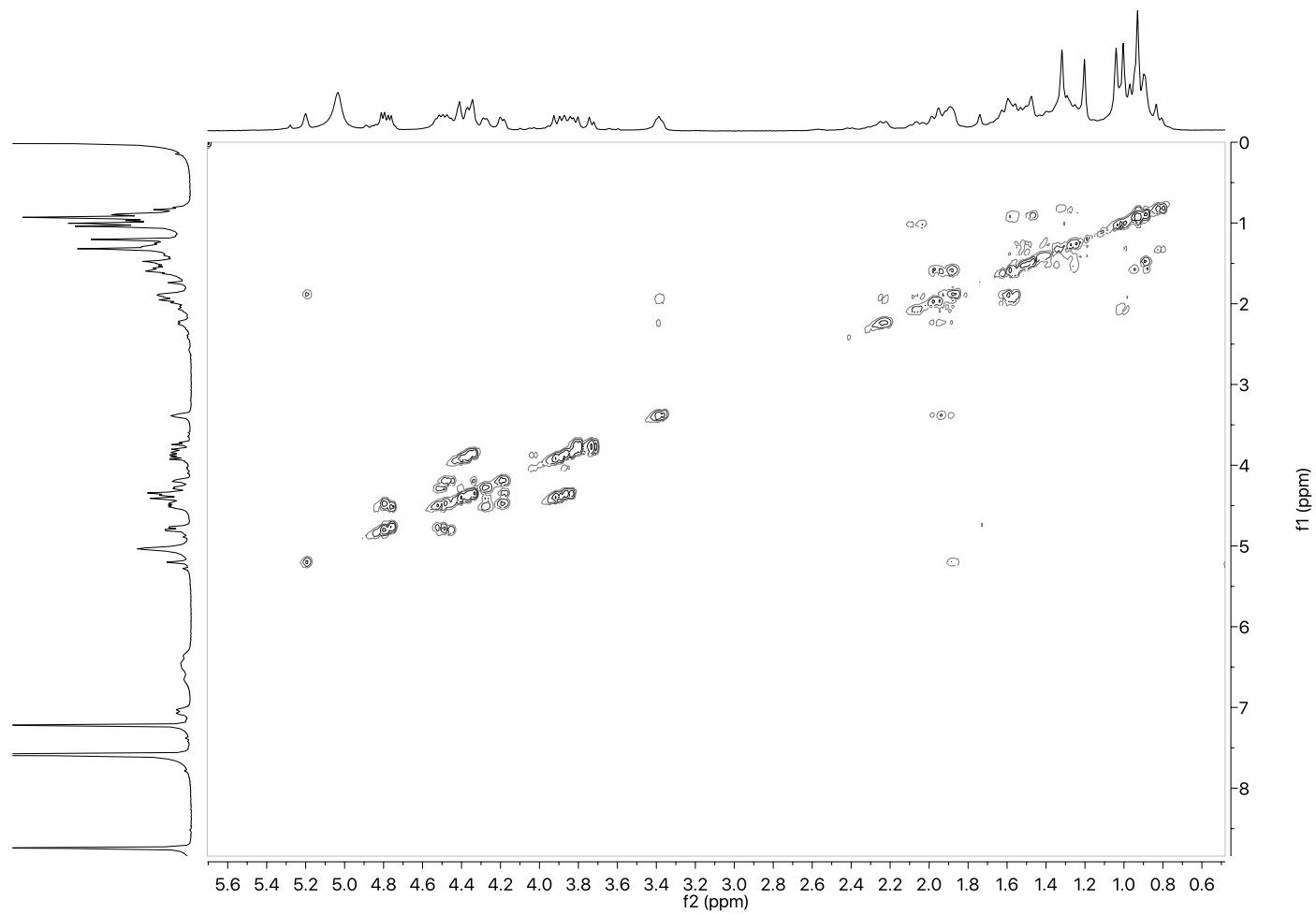
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl) uvaol (**44**)

 $^1\text{H}$  3,28-di-O- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (52)Pyridine- $d_5$

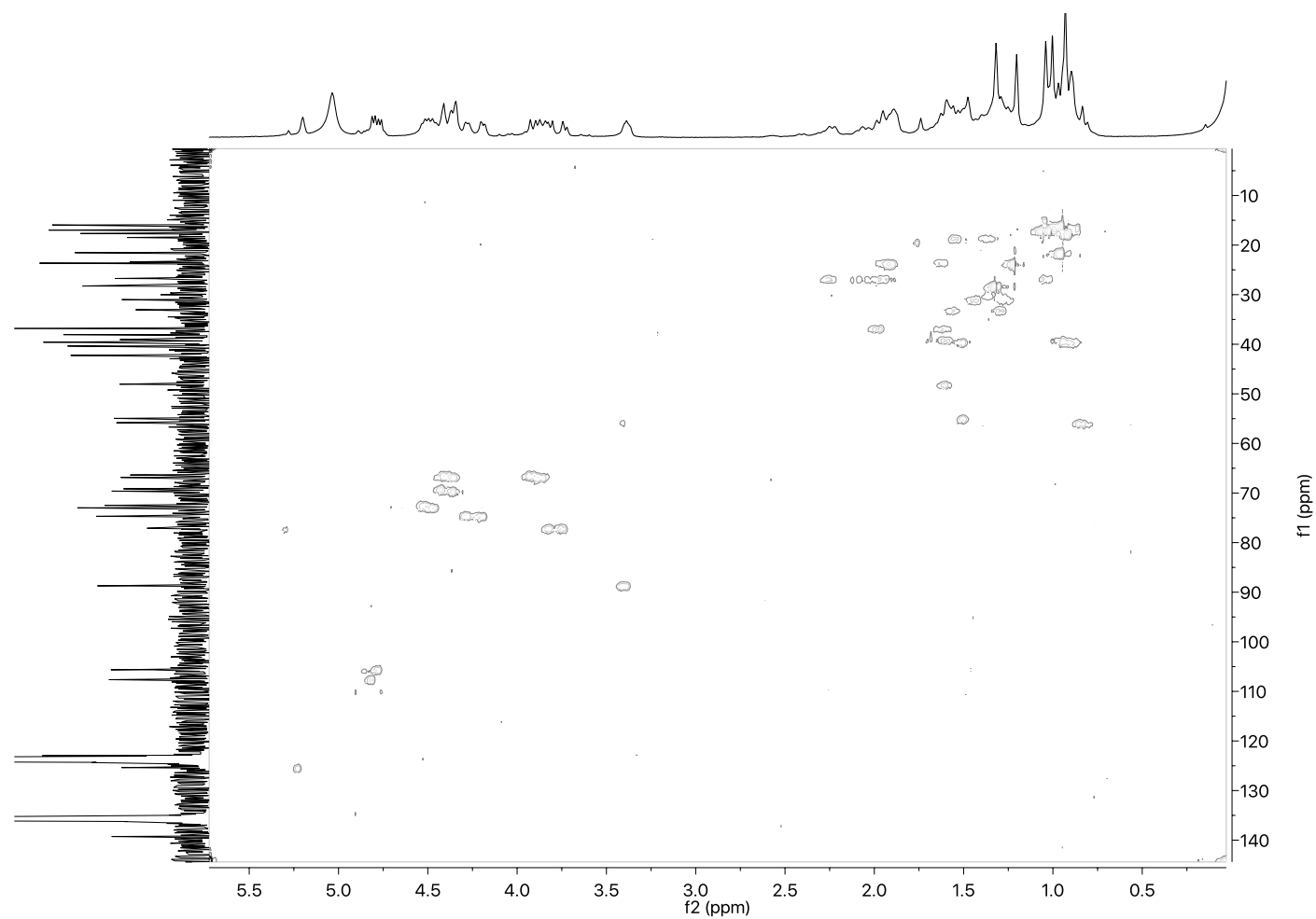


<sup>13</sup>C 3,28-di-*O*-α-*L*-arabinopyranosyl uvaol (**52**)

DEPT135 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (**52**)

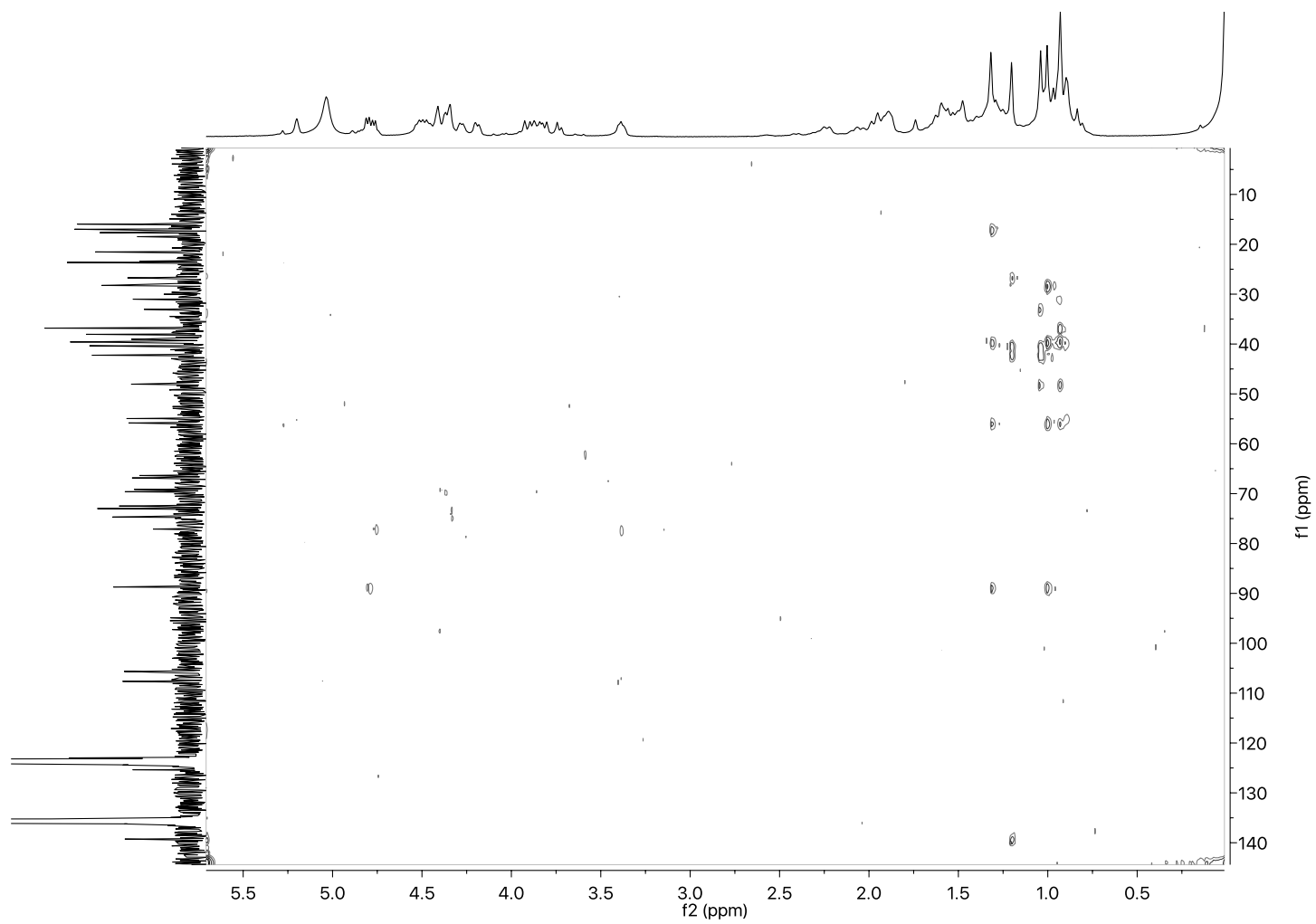


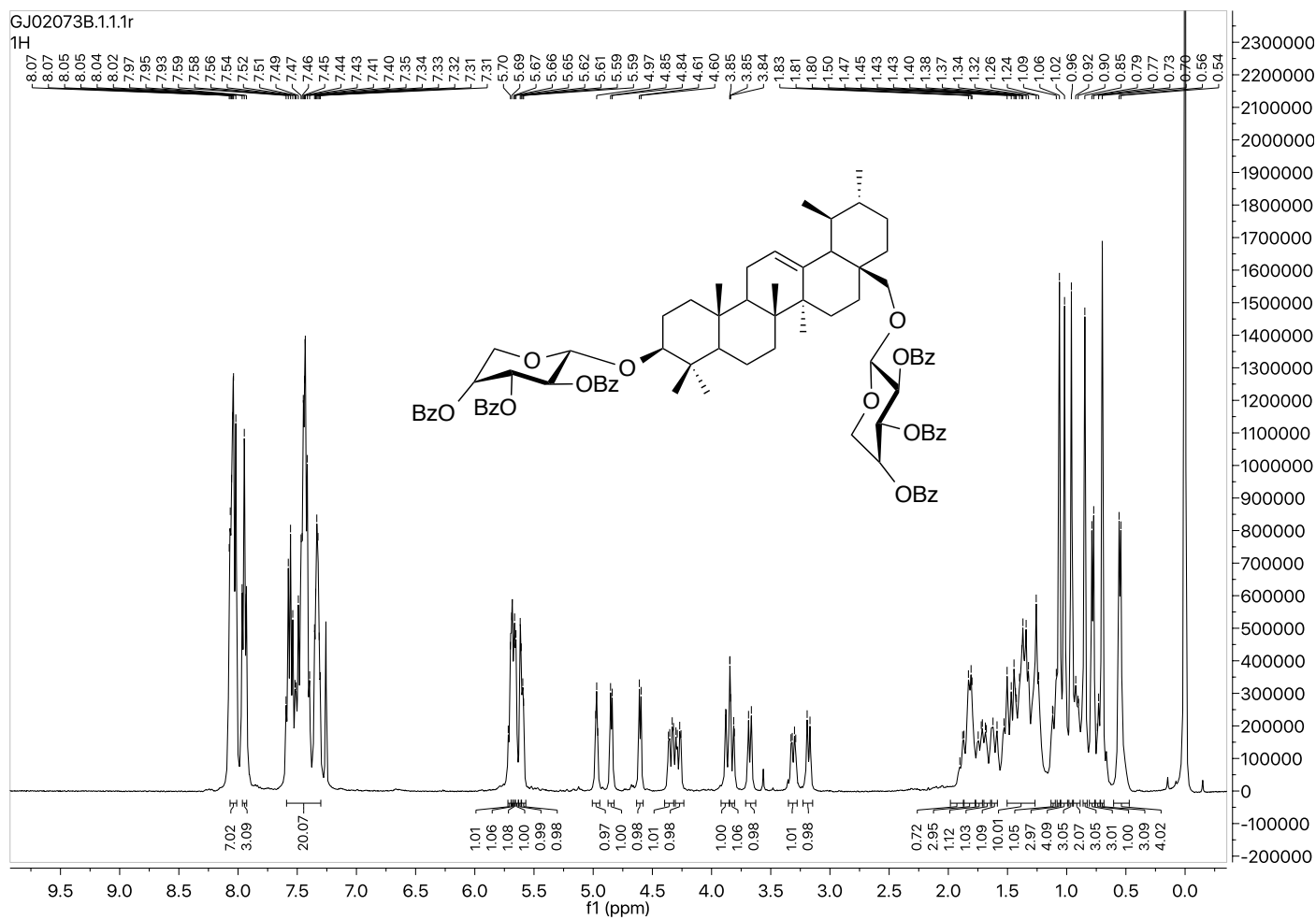
COSY 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (**52**)



HSQC 3,28-di-*O*-α-L-arabinopyranosyl uvaol (**52**)

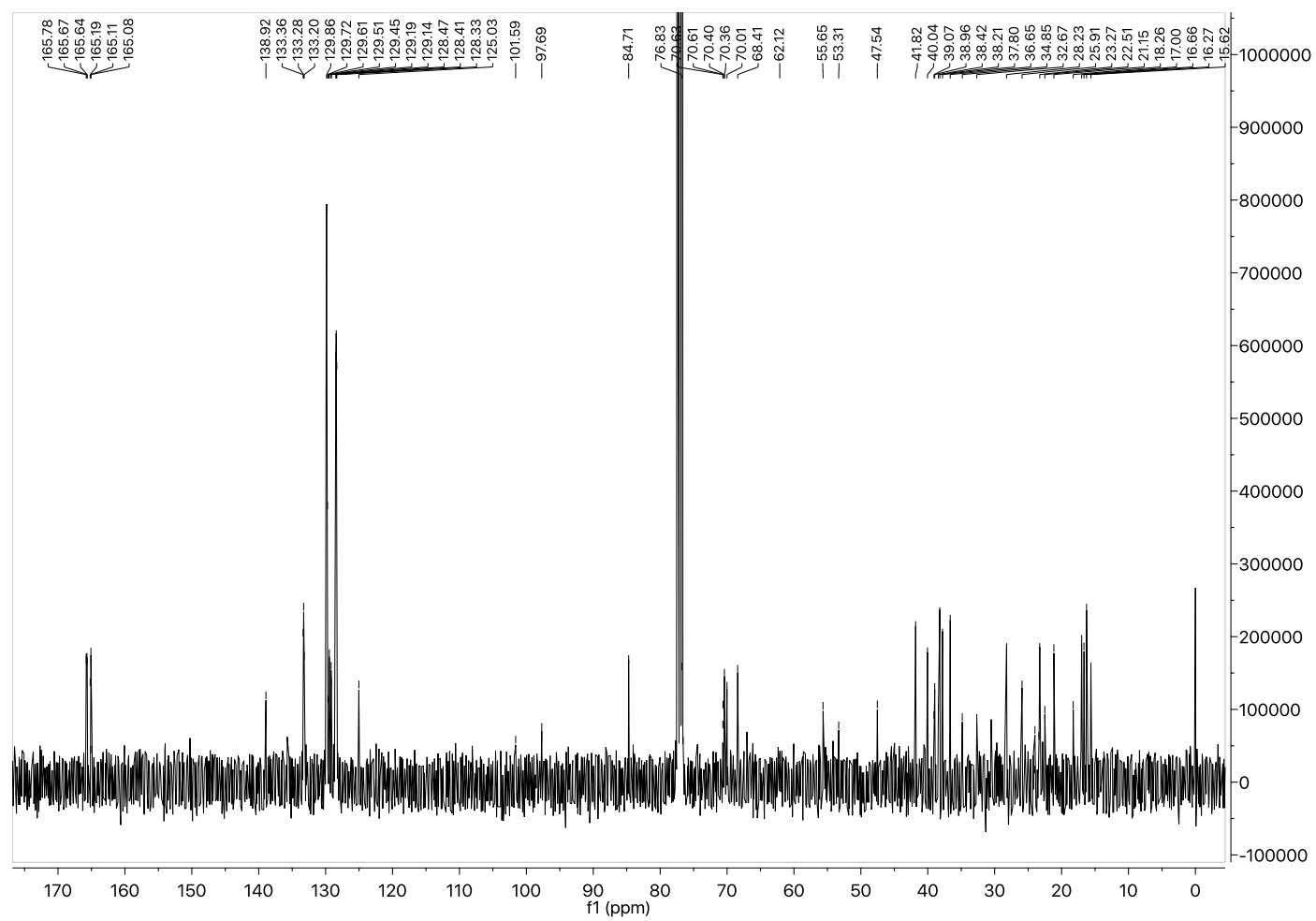


HMBC 3,28-di-*O*- $\alpha$ -L-arabinopyranosyl uvaol (**52**)

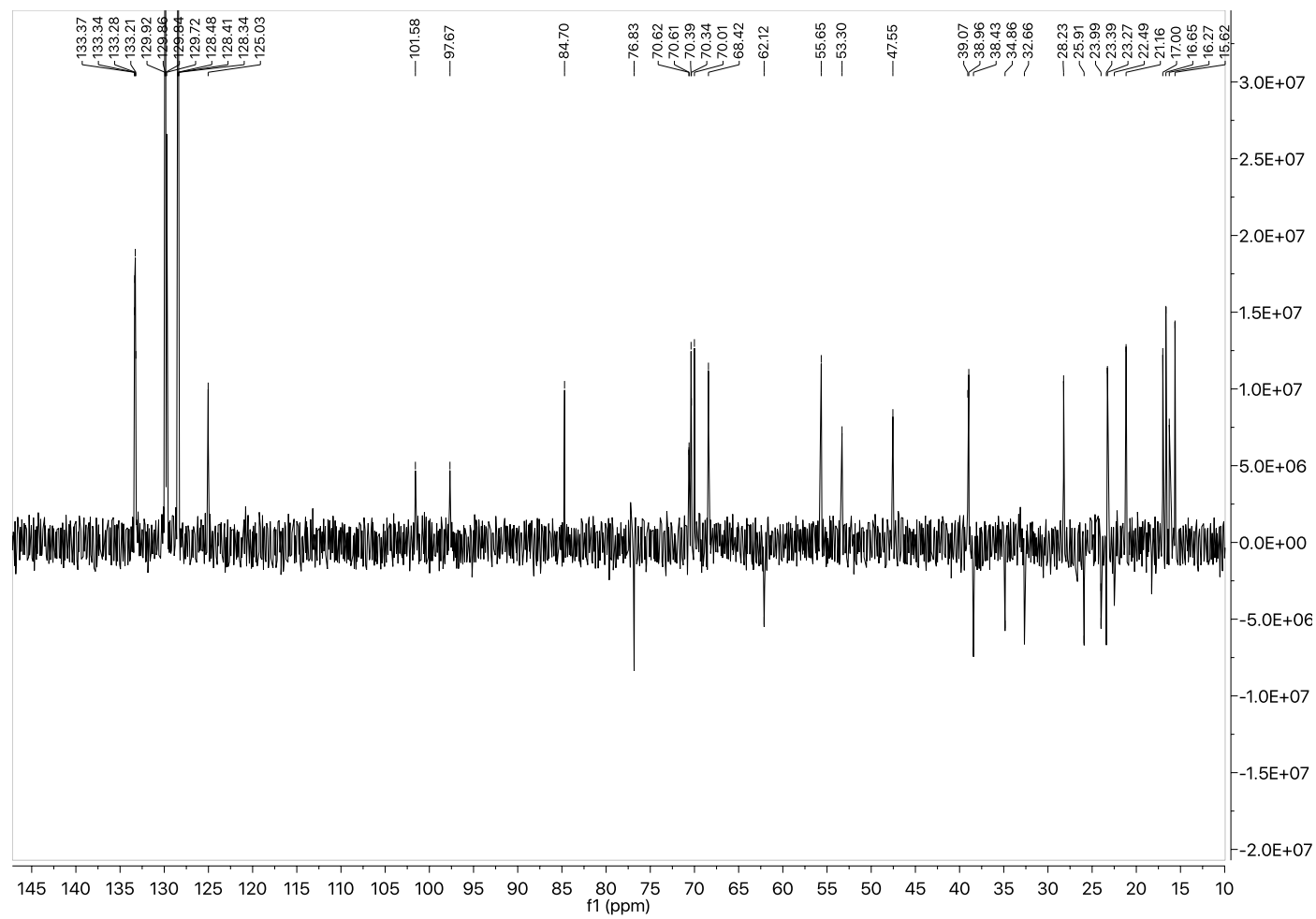


$^1\text{H}$  3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)

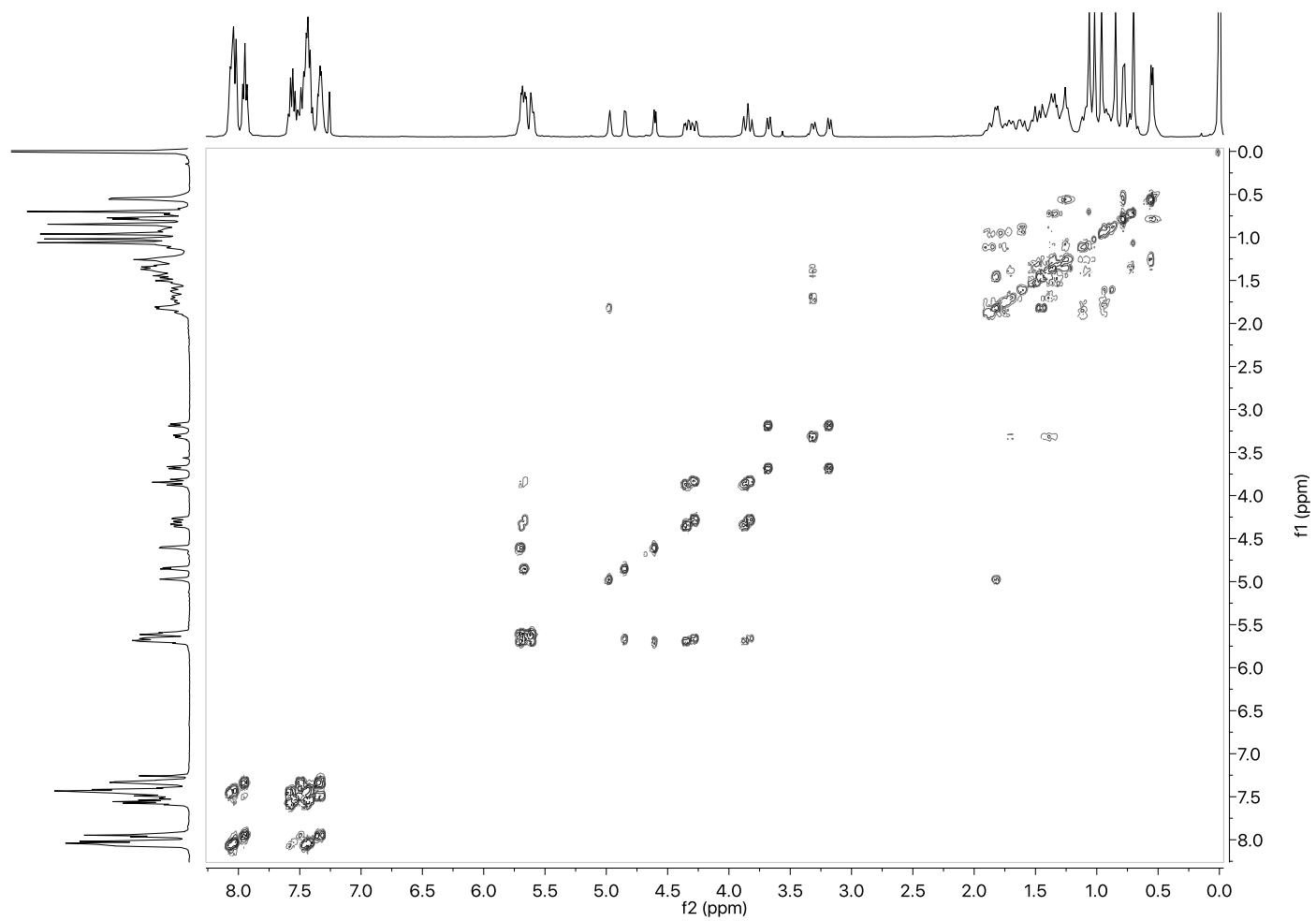
*Chloroform-d*



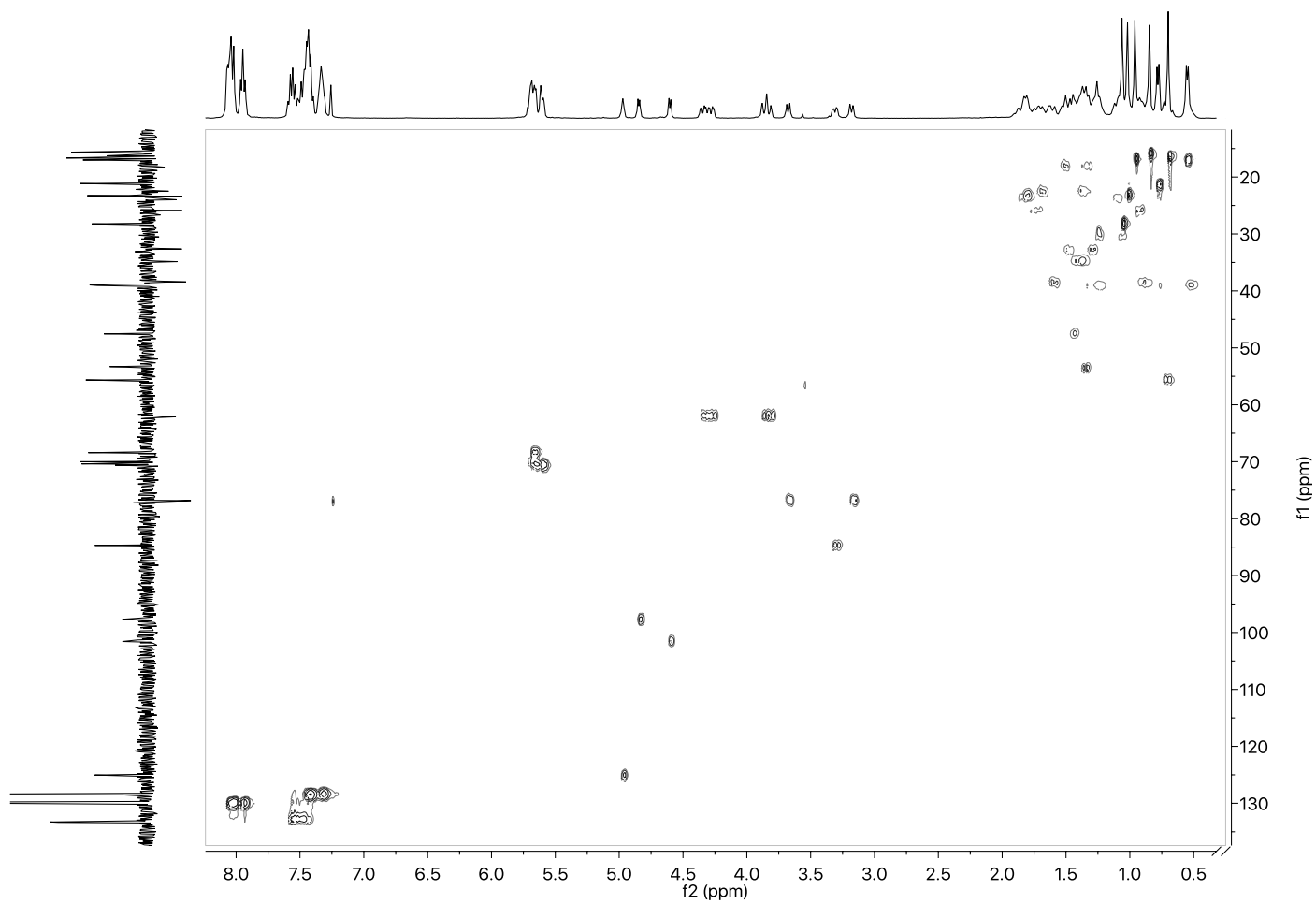
<sup>13</sup>C 3,28-di-O-(2,3,4-tri-O-benzoyl-β-D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)



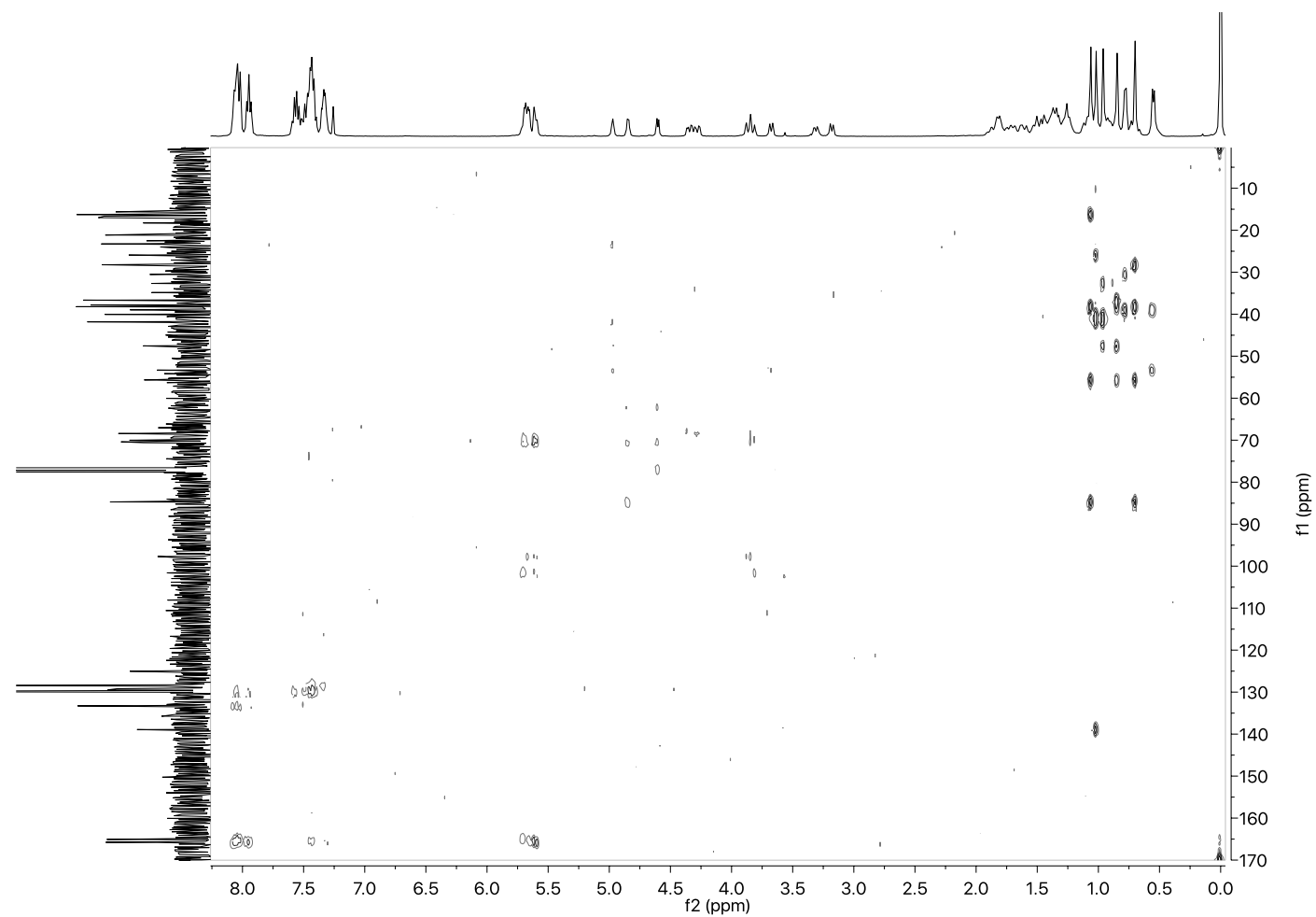
DEPT135 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)



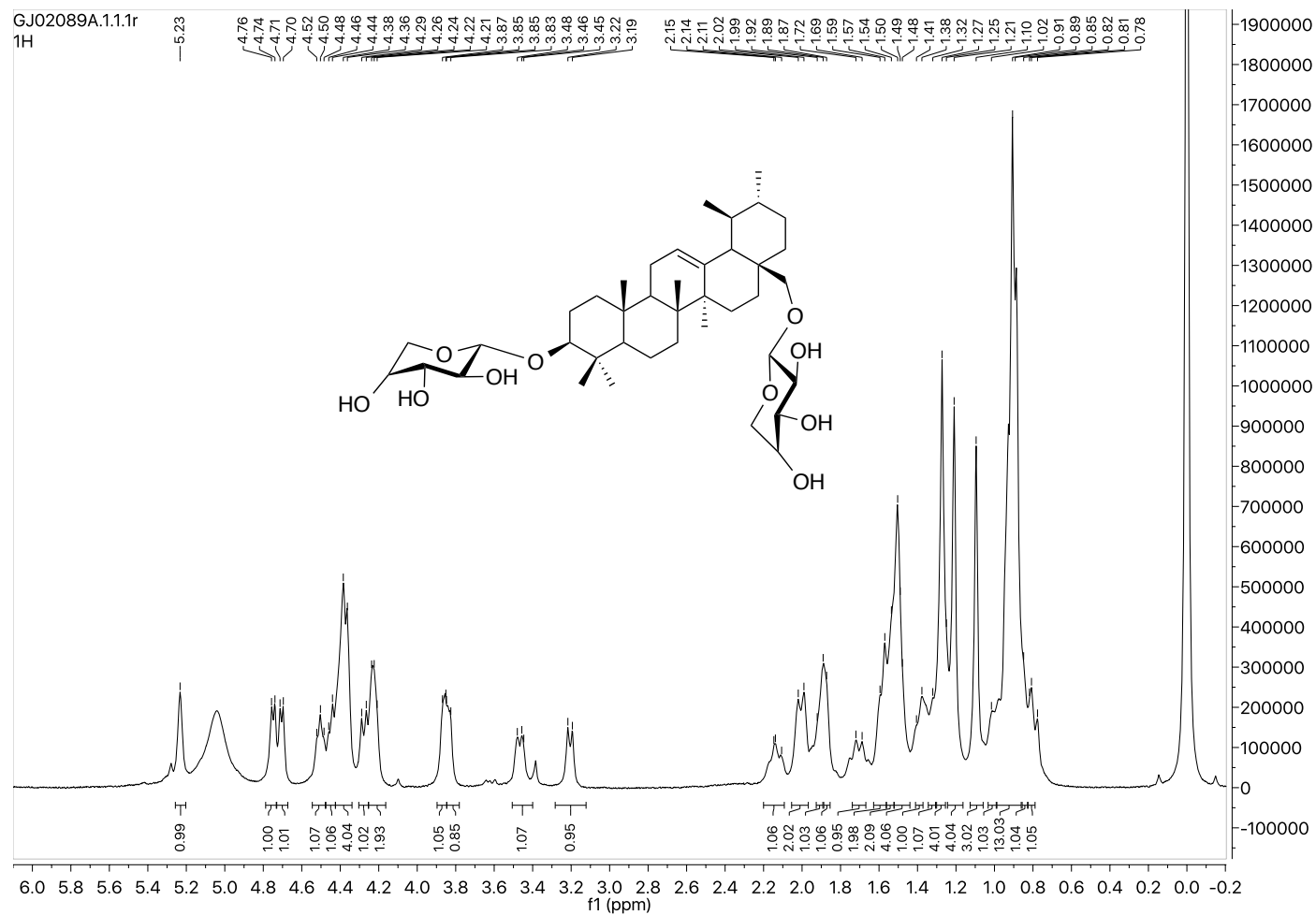
COSY 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)



HSQC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)



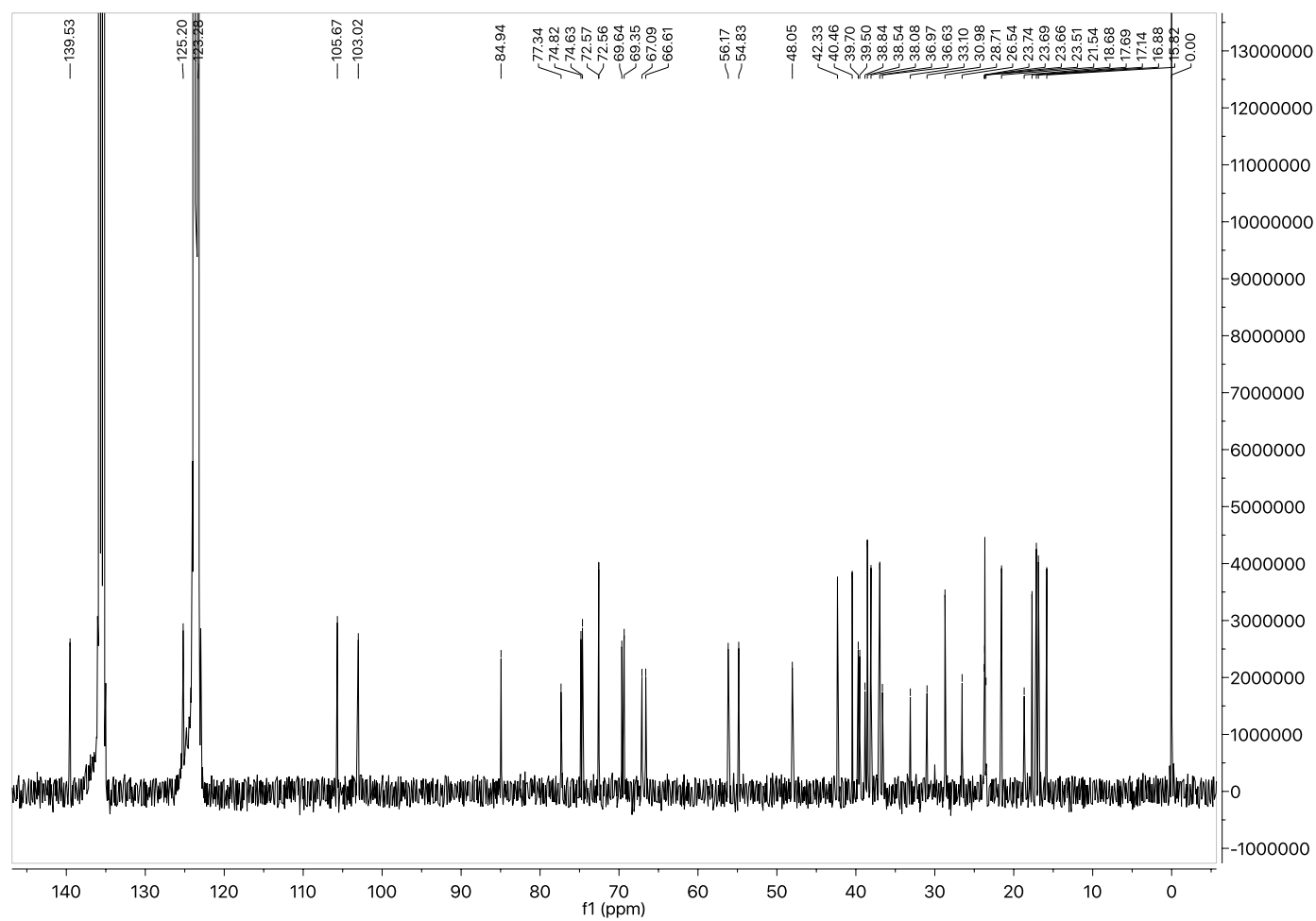
HMBC 3,28-di-*O*-(2,3,4-tri-*O*-benzoyl- $\beta$ -D-arabinopyranosyl) uvaol (**45**)



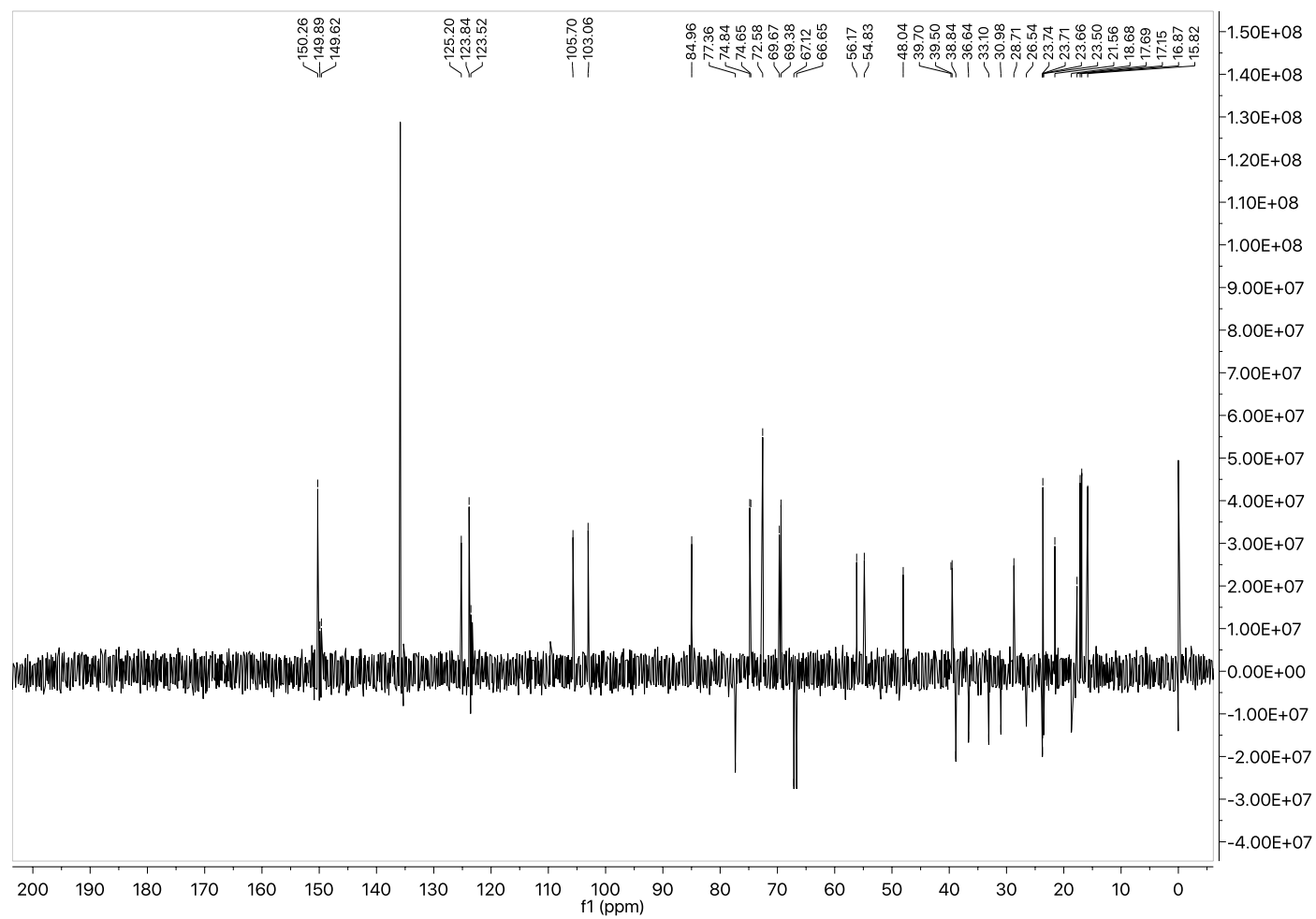
<sup>1</sup>H 3,28-di-O-β-D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)

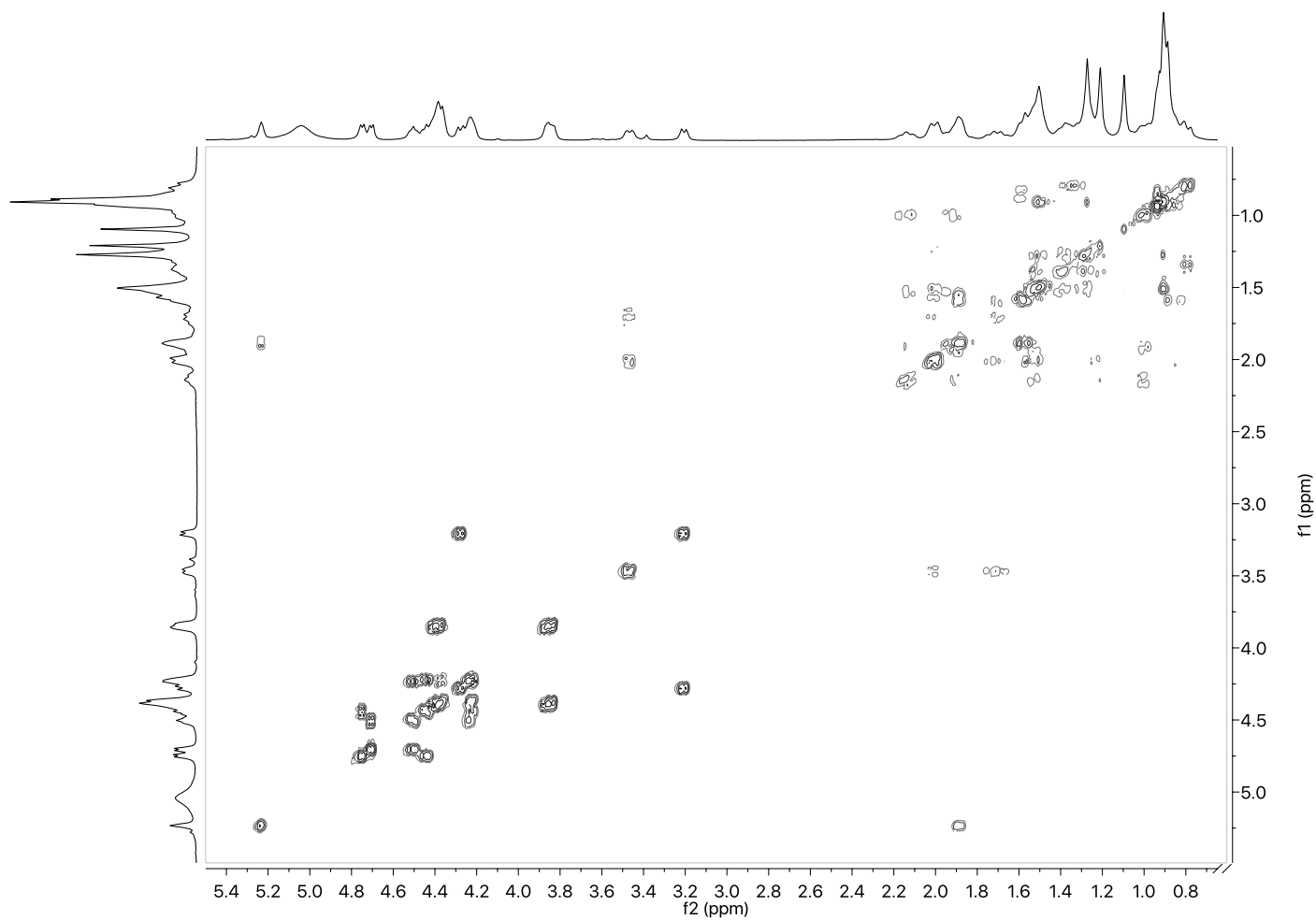
Pyridine-*d*<sub>5</sub>

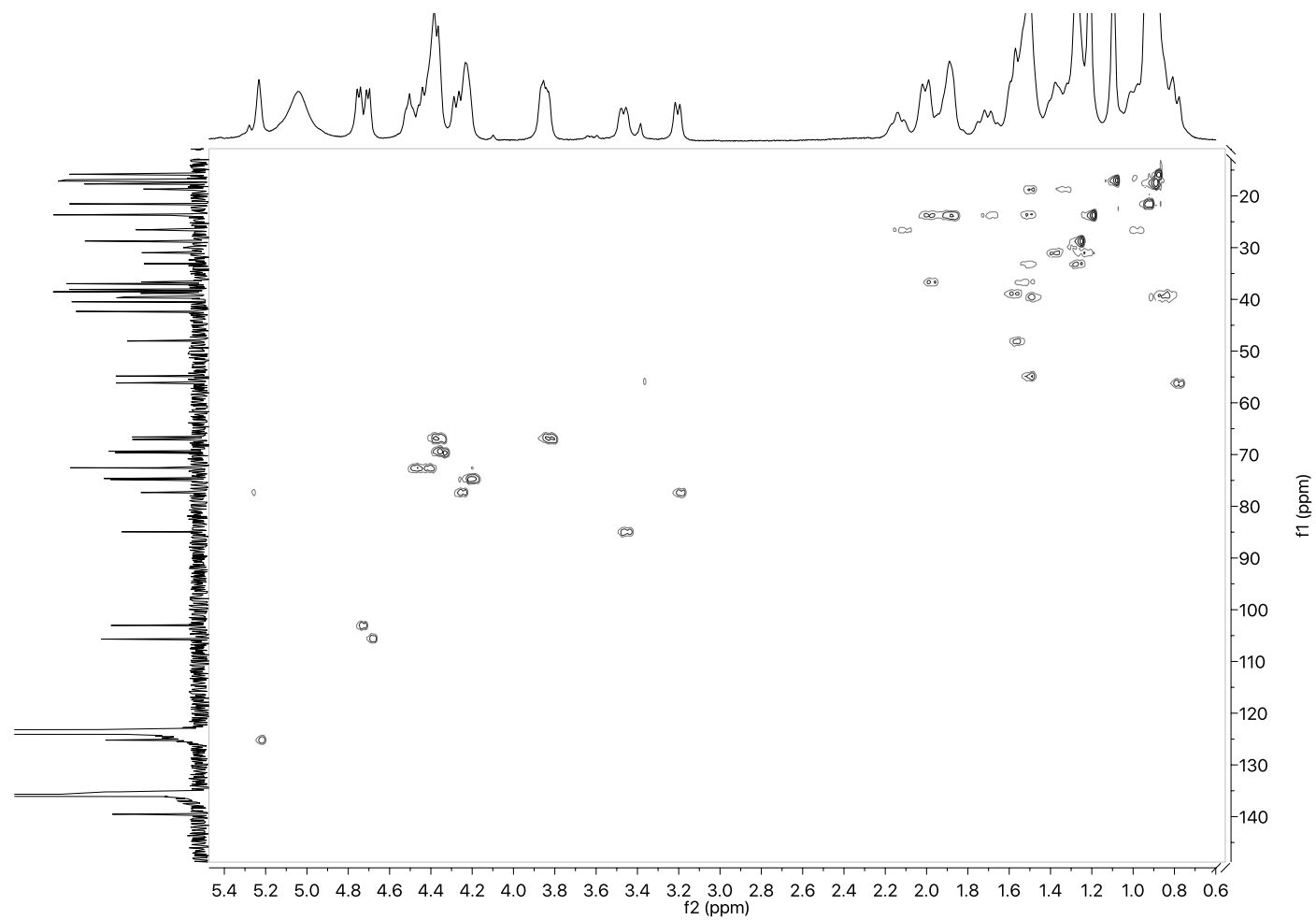


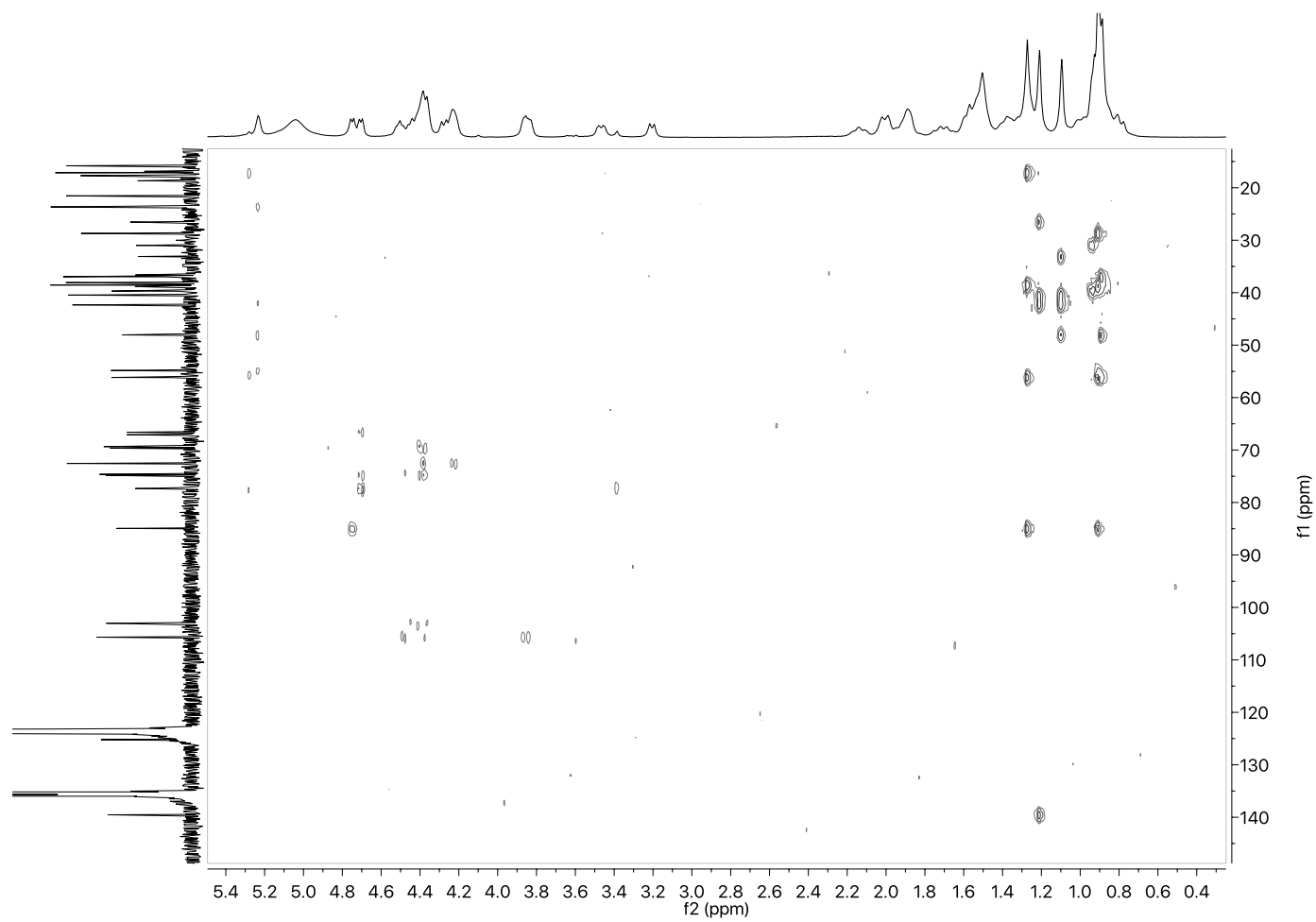


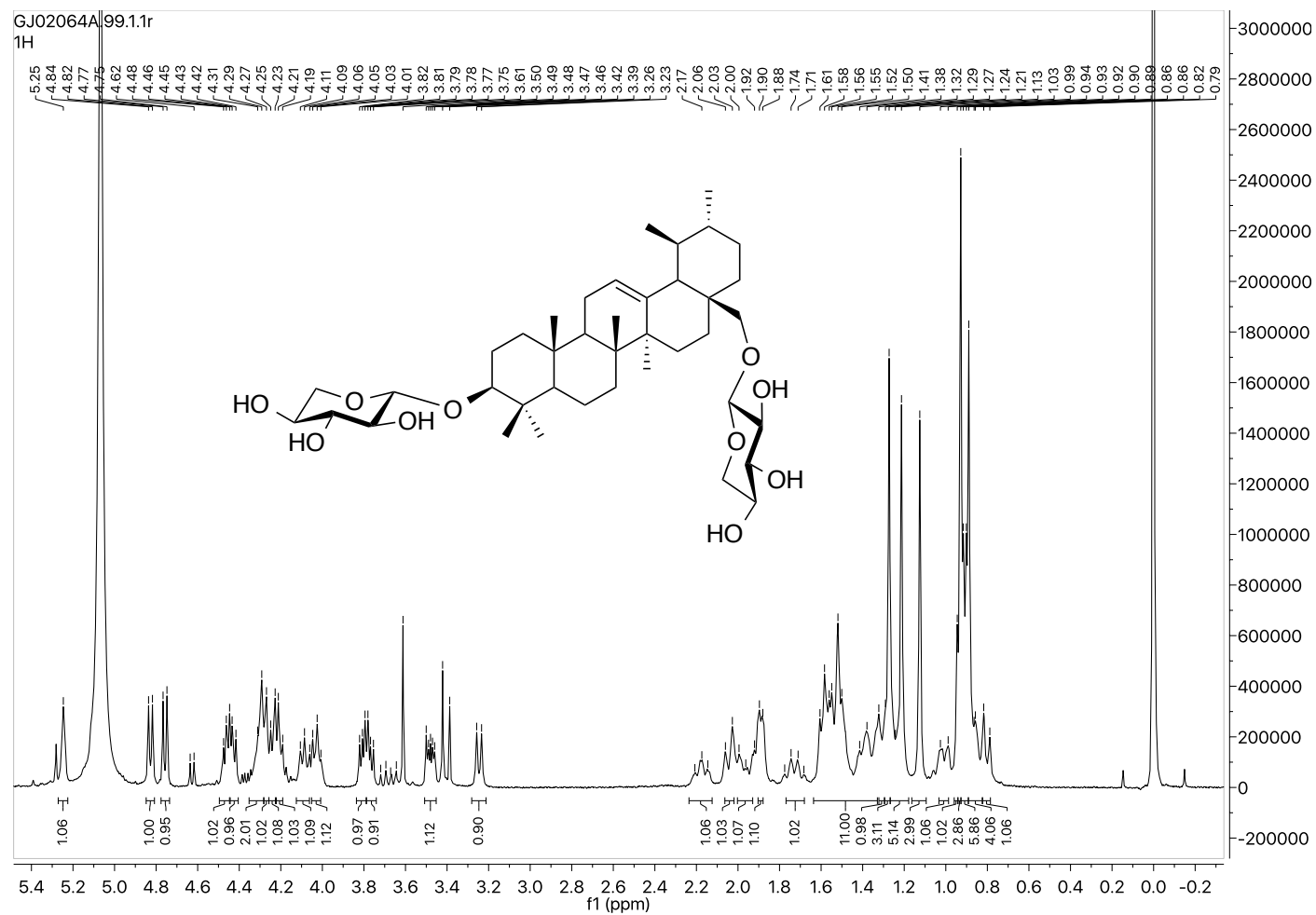
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*- $\beta$ -D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)



COSY 3,28-di-*O*-β-D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)

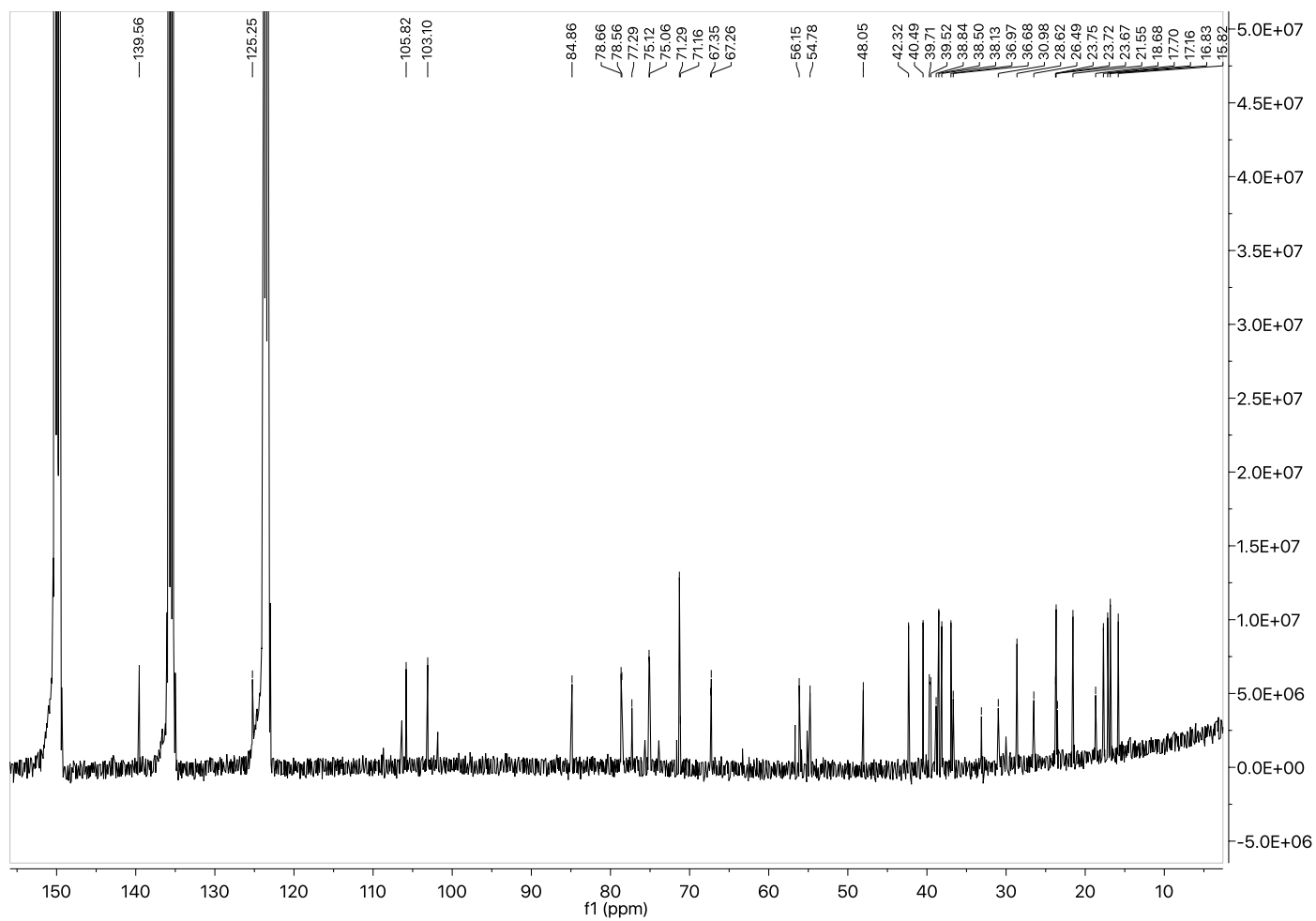
HSQC 3,28-di-*O*-β-D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)

HMBC 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-arabinopyranosyl uvaol (**53**)

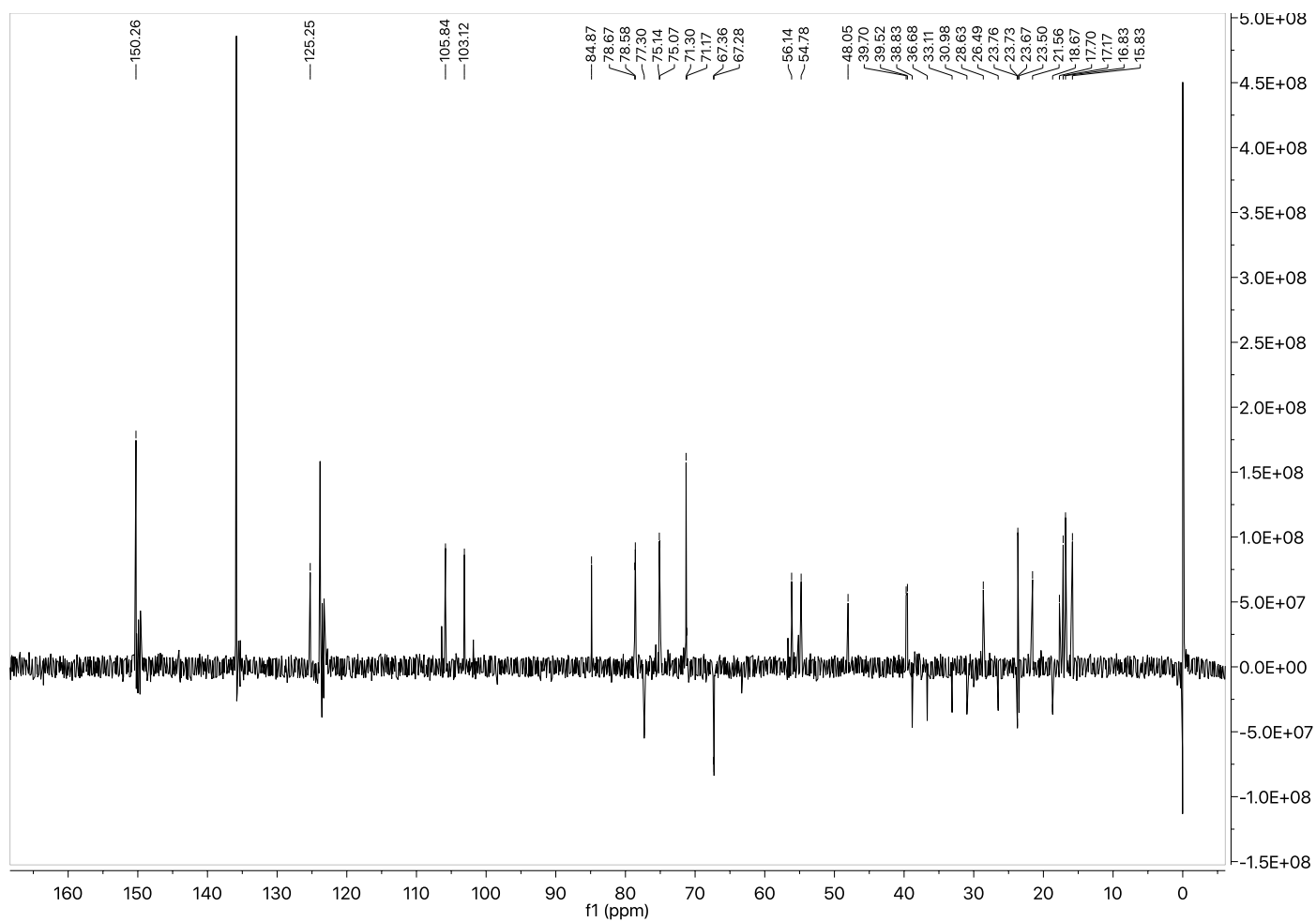


<sup>1</sup>H 3,28-di-O-β-L-xylopyranosyl uvaol (54)

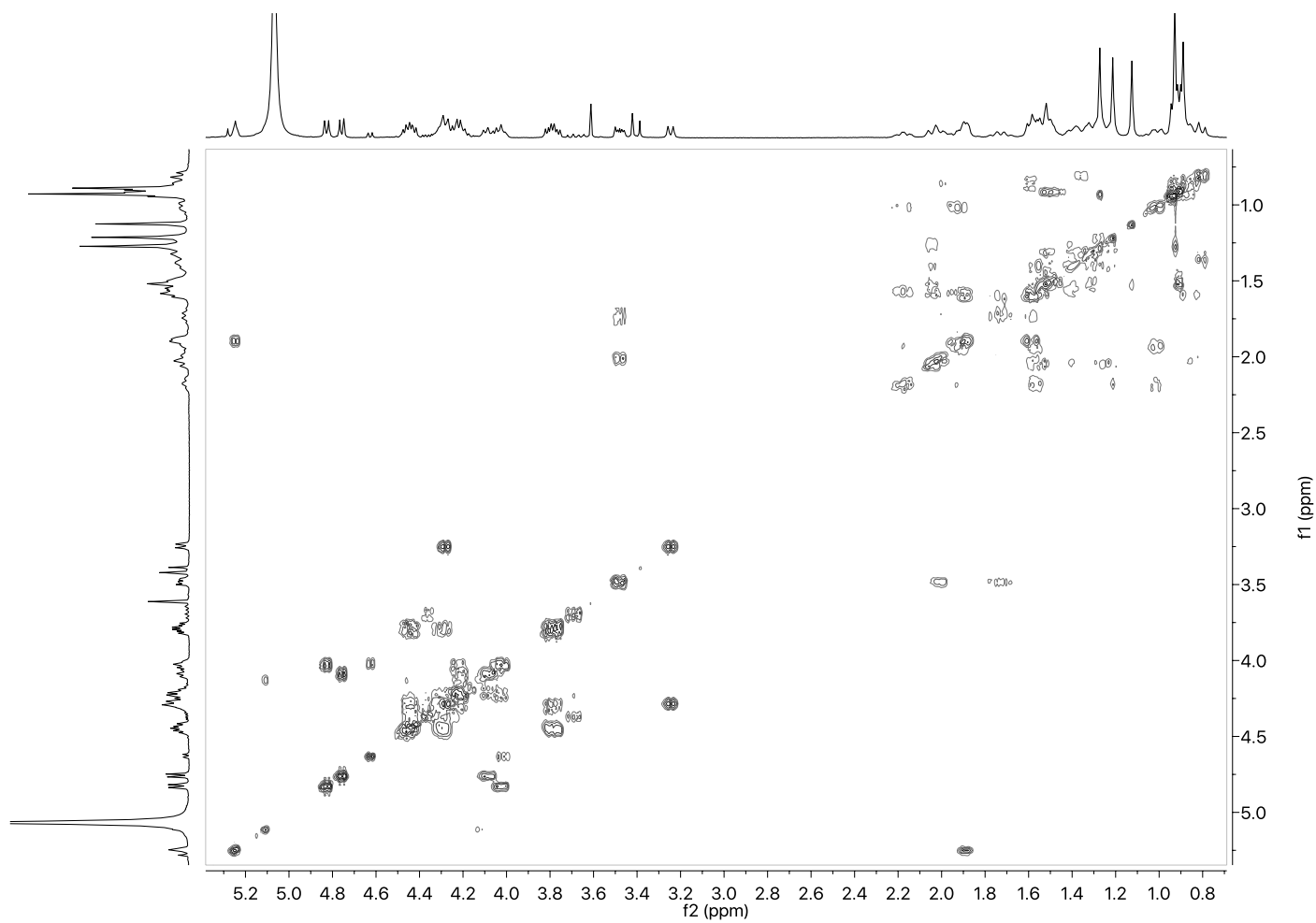
Pyridine-d<sub>5</sub>

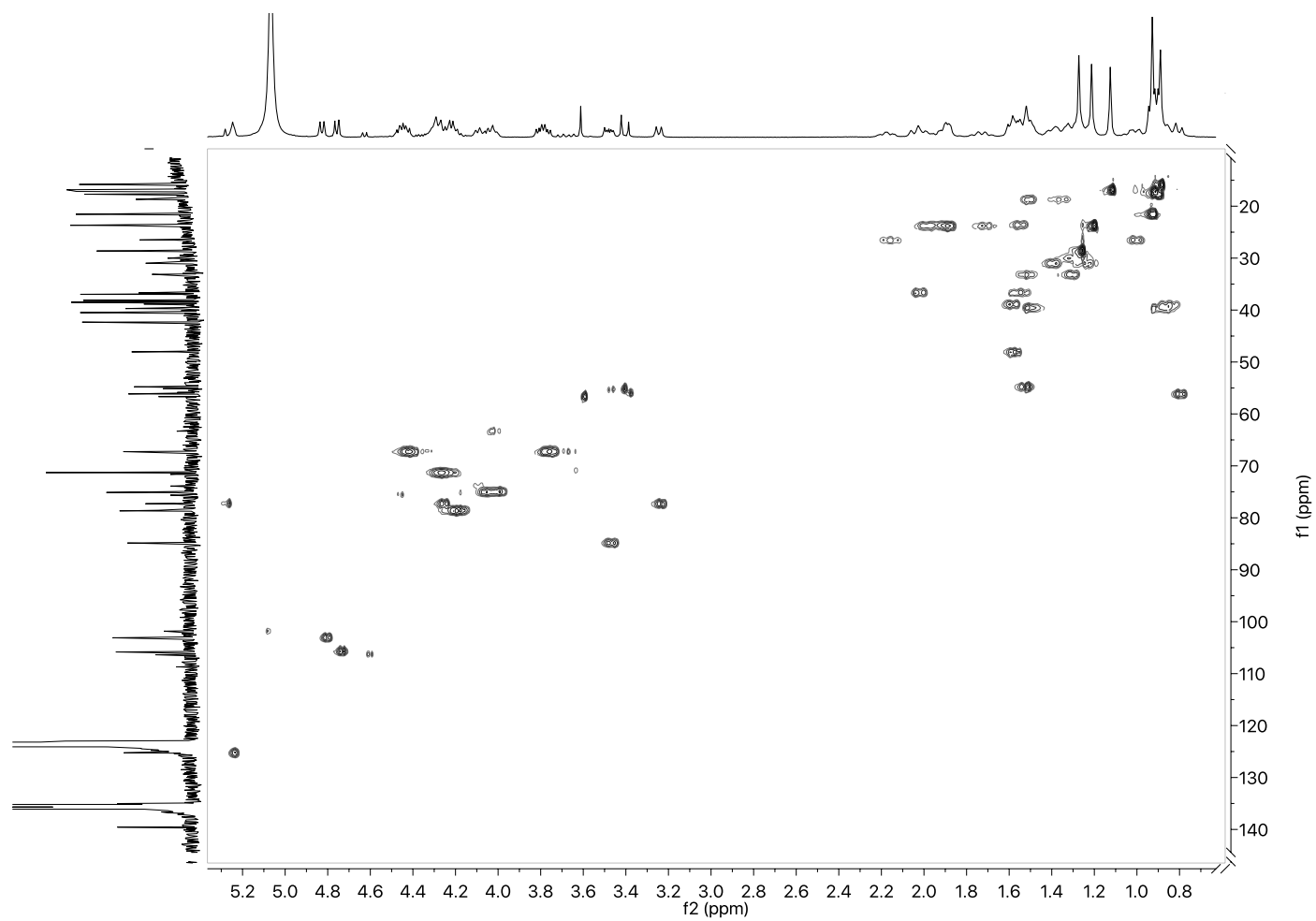


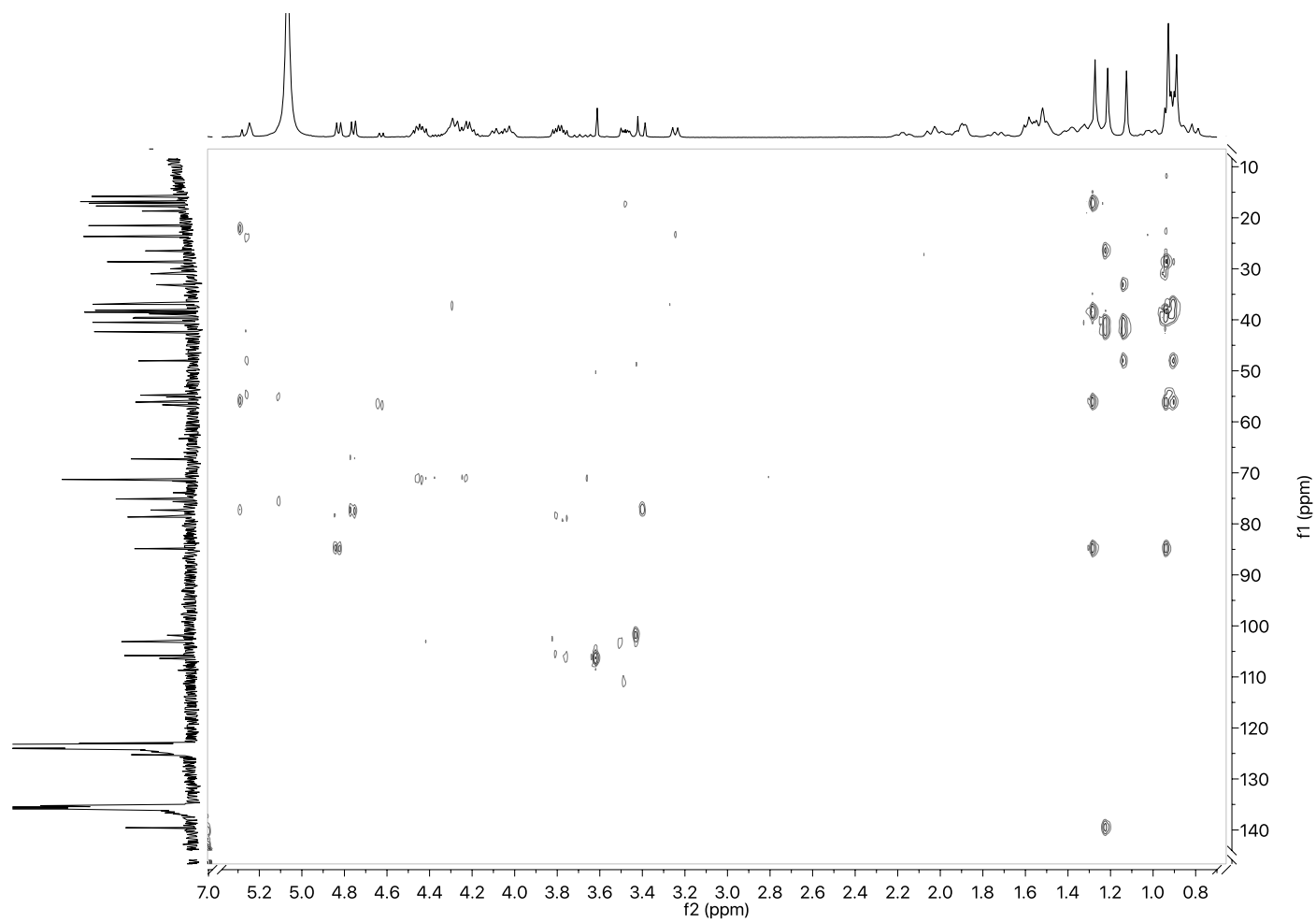
$^{13}\text{C}$  3,28-di-*O*- $\beta$ -L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

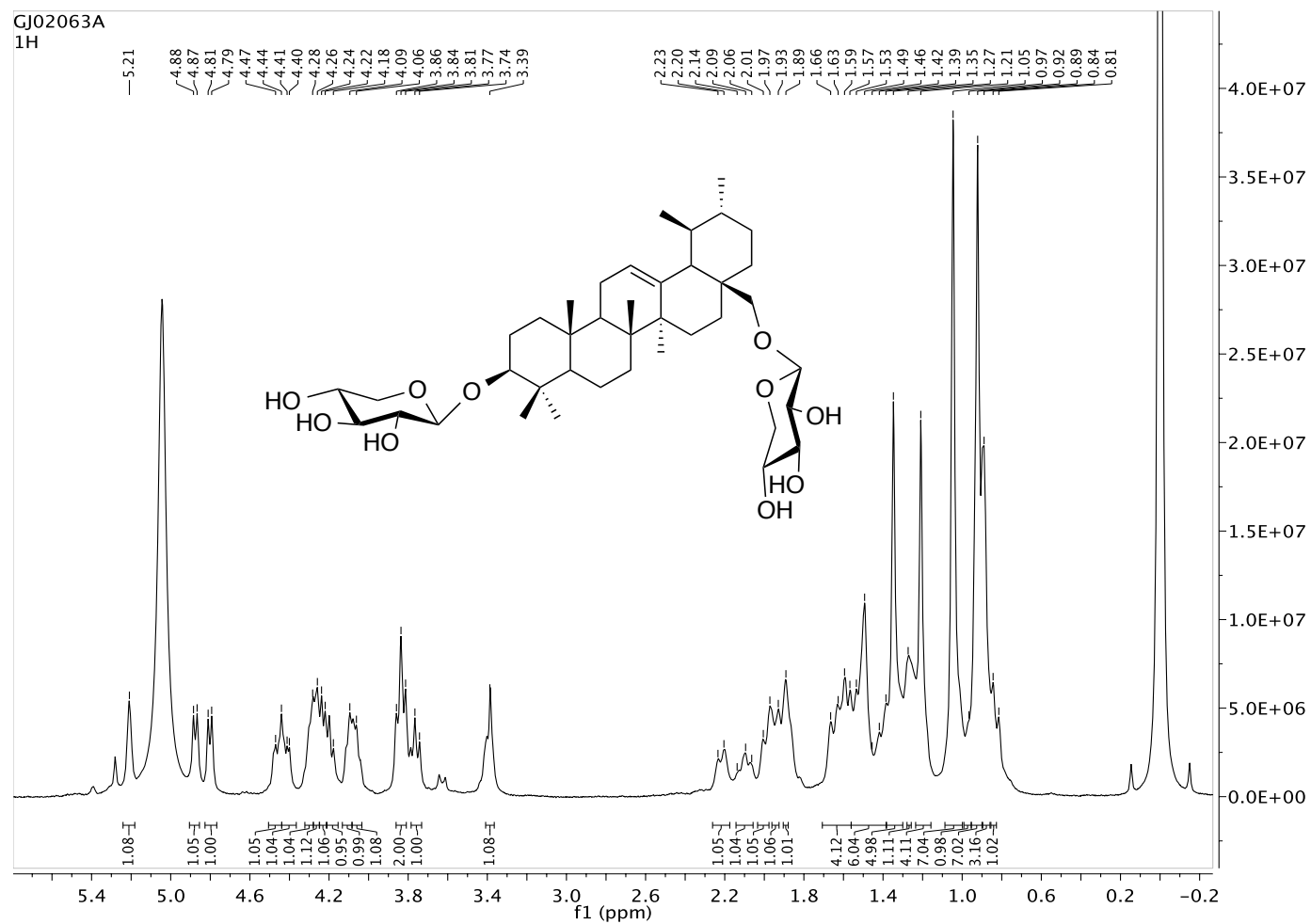
DEPT135 3,28-di-*O*- $\beta$ -L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

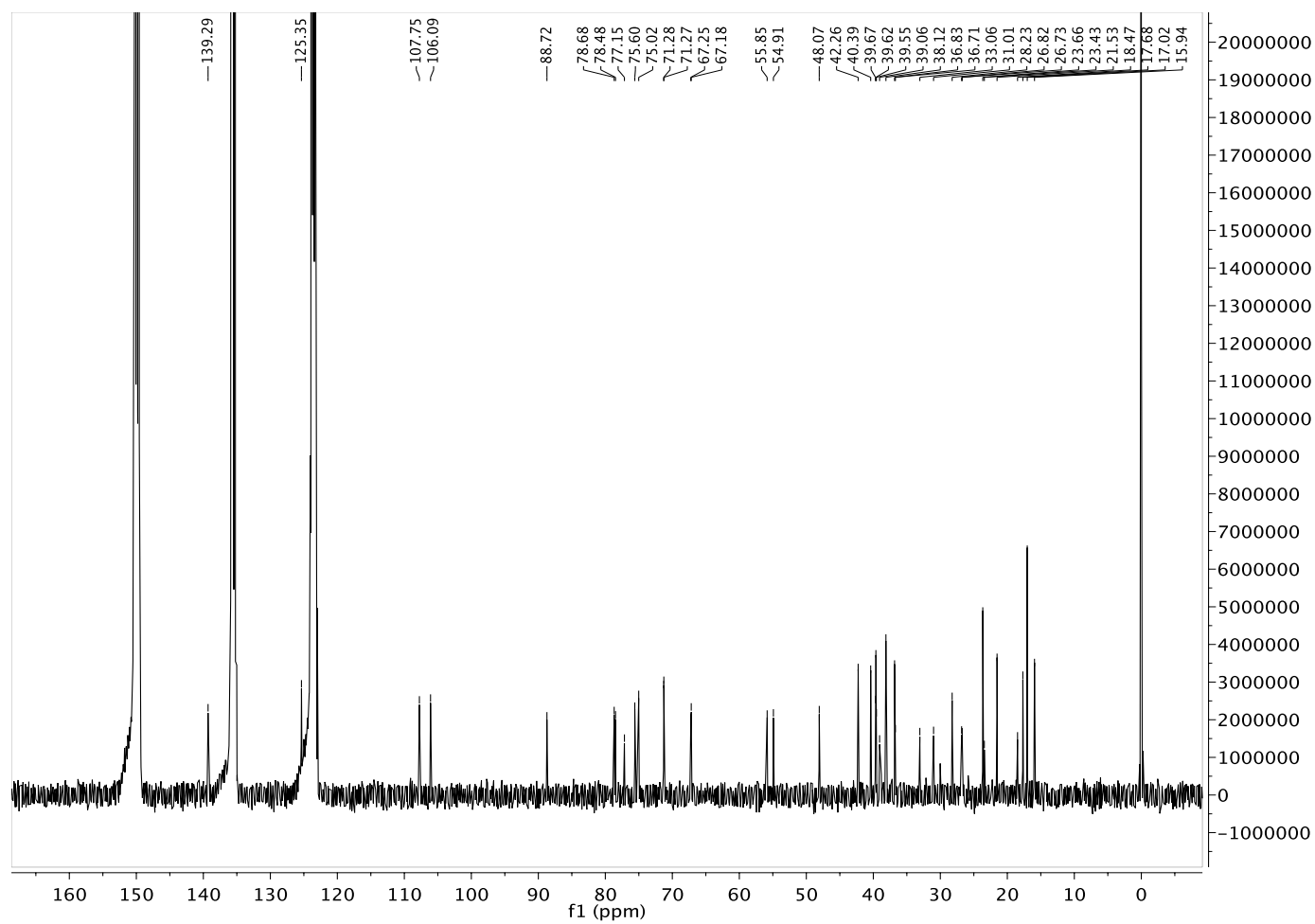


COSY 3,28-di-*O*-β-L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

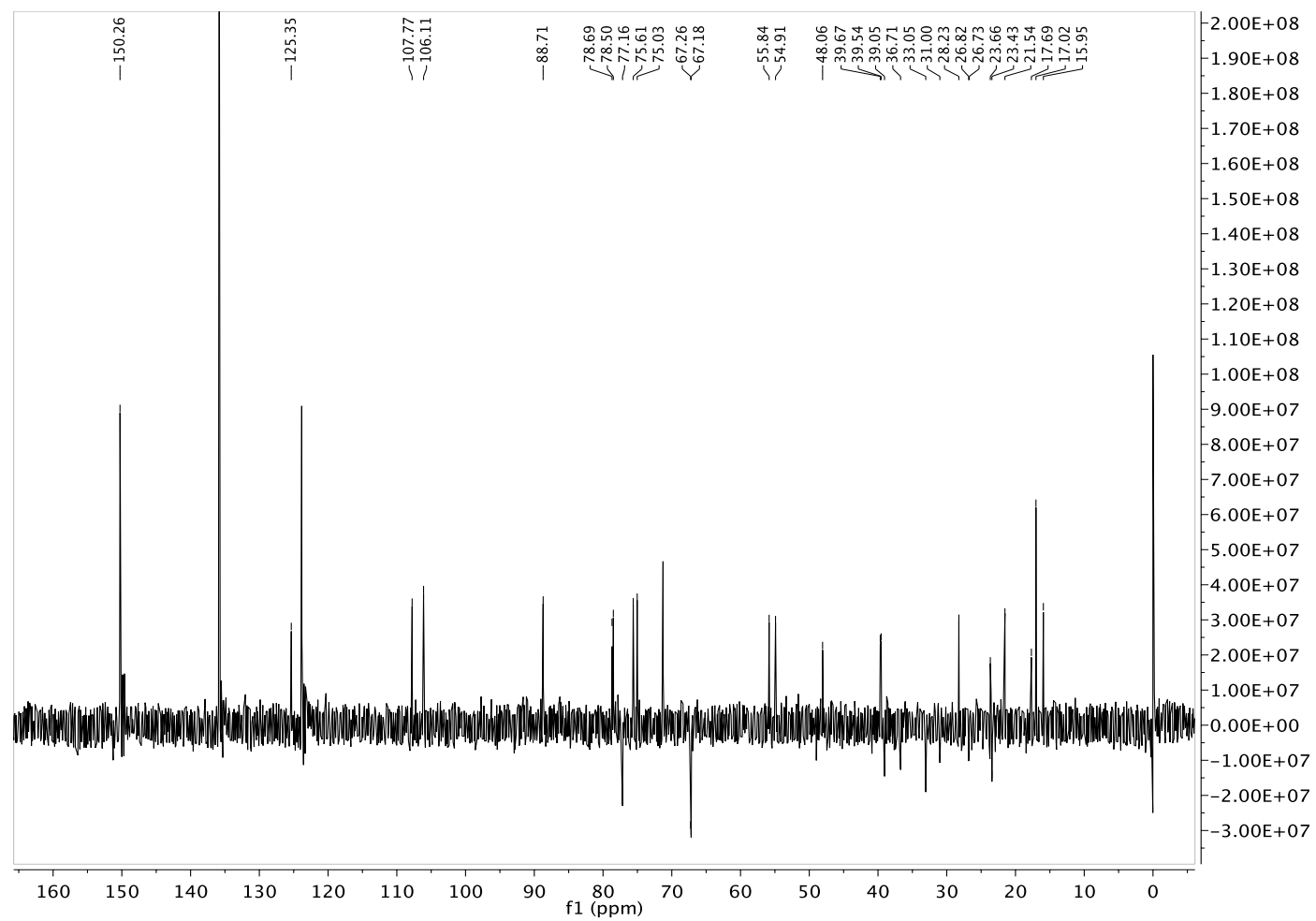
HSQC 3,28-di-*O*- $\beta$ -L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

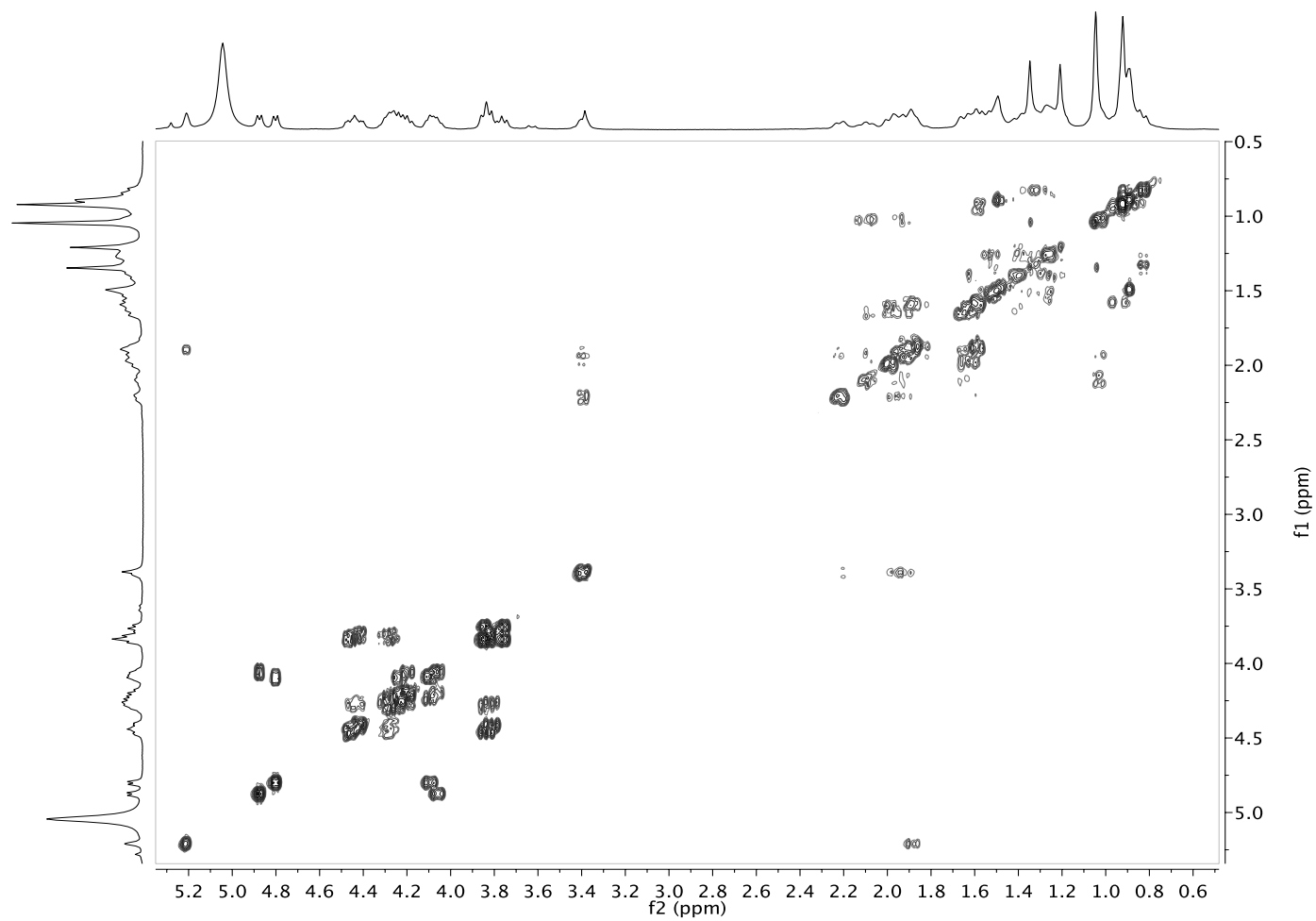
HMBC 3,28-di-*O*- $\beta$ -L-xylopyranosyl uvaol (**54**)

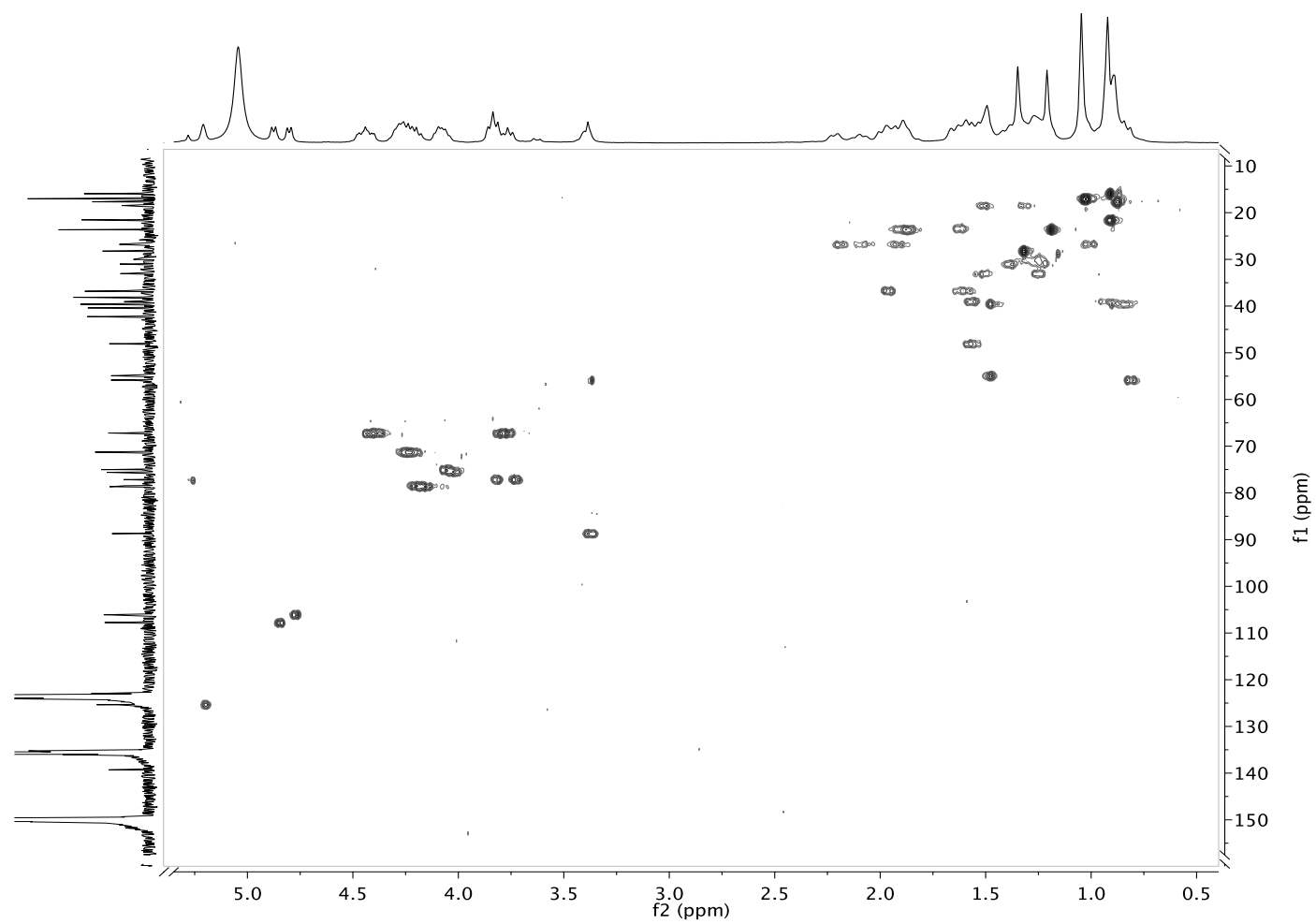
<sup>1</sup>H 3,28-di-O-β-D-xylopyranosyl uvaol (55)Pyridine-d<sub>5</sub>



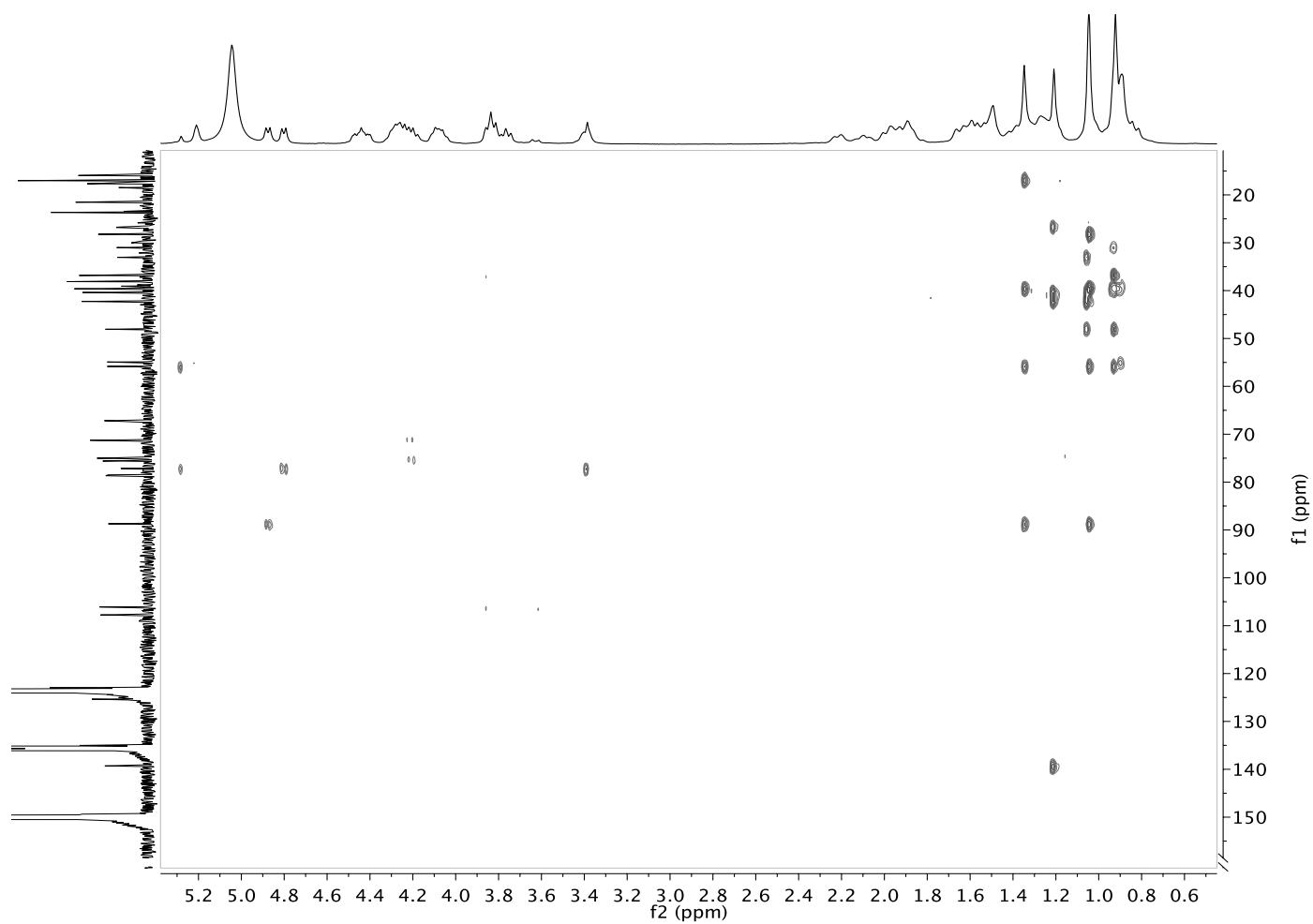
<sup>13</sup>C 3,28-di-O-β-D-xylopyranosyl uvaol (**55**)



COSY 3,28-di-*O*-β-D-xylopyranosyl uvaol (**55**)

HSQC 3,28-di-*O*-β-D-xylopyranosyl uvaol (**55**)



HMBC 3,28-di-*O*- $\beta$ -D-xylopyranosyl uvaol (**55**)